

目 次

1. 前期染色サーベイ

A) はじめに	P. 1 ~ P. 2
B) 精度管理概要	P. 3 ~ P.17
C) 前期染色サーベイの結果と考察	P.18 ~ P.21
D) 染色組織像(各企業染色)	P.22 ~ P.24
E) アンケート結果	P.25 ~ P.44

2. 後期フォトサーベイ

A) 問題用紙	P.45 ~ P.49
B) 後期フォトサーベイ解答結果内訳	P.50 ~ P.53
C) 後期フォトサーベイの結果と考察	P.54 ~ P.90
D) 参考文献	P.91 ~ P.92

3. 謝辞

P.93

2017 年度前期染色サーベイ(ALK,TTF-1,p40)

A) はじめに

日本病理精度保証機構（Japan Pathology Quality Assurance System: JPQAS）は、平成 26 年 3 月に認証された特定非営利活動法人（NPO 法人）です。病理診断の精度管理向上を目指して設立されました。本機構の活動には、正会員として日本病理学会、日本臨床衛生検査技師会、日本乳癌学会、日本胃癌学会、日本肺癌学会、日本リンパ網内系学会（平成 30 年 2 月現在、順不同）等が団体として加わっており、機構の活動が有機的かつ効率的に行えるよう体制を整えています。

平成 26 年度より始めました精度管理調査におきましては、初年度は後期調査のみ、WSI（whole slide imaging）装置を用いたフォトサーベイを行いました。平成 27 年度（第 2 回）は、前期の染色サーベイでは消化管間葉系腫瘍（Gastrointestinal stromal tumor: GIST）の c-kit (CD117) 免疫染色を取り上げ、後期フォトサーベイでは、GIST 症例の c-kit 免疫染色および胃癌症例の HER2 免疫染色を取り上げました。昨年度（平成 28 年度・第 3 回）には、前期調査項目に悪性リンパ腫をテーマとして、CD30 免疫染色を取り上げました。後期フォトサーベイでは、慢性リンパ球白血病・小リンパ球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、節性濾胞辺縁帯リンパ腫、濾胞性リンパ腫の 4 種類のリンパ腫の WSI 画像を、14 種類の選択肢から選択する方法を採用しました。WSI 画像を用いた病理診断の大規模精度管理調査を行うことができました。

今年度（平成 29 年度・第 4 回）は、肺癌をテーマとして掲げました。公益財団法人がん研究振興財団による「がんの統計'16」によれば、2016 年 新規に癌を罹患された患者総数は 101 万人を超え、中でも肺癌に罹患された方は、年間 133,800 名（男性 90,600 名、女性 43,200 名）と、部位別では両者とも第 3 位となっています。肺癌による死亡者数は、男性は第 1 位であり、55,200 名（25%:全癌死亡者数に対する）、女性は 21,100 名（14%）で第 2 位であり、男女合わせた癌死亡要因の第 1 位となっています。

近年の癌治療における個別化医療の進歩は目覚ましいものがあります。肺癌治療においても高い奏効率が報告されています。肺癌では「EGFR 遺伝子変異」、「ALK 融合遺伝子」、「ROS1 融合遺伝子」といった遺伝子変異が知られ、これらの他にも KRAS、c-MET、BRAF、PD-L1 などに対する分子標的治療薬が開発されてきています。

今回、テーマとして肺癌診断における免疫染色を取り上げました。Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1)、ALK、p40 抗体は非小細胞性肺癌において、腺癌と扁平上皮癌の鑑別を行う上では、病理検査室には必ず常備しておきたい抗体です。TTF-1 は肺腺癌組織診断マ

ーカーとして有用とされ、正常肺組織においても II 型肺胞上皮細胞、Clara 細胞、一部の細気管支粘膜上皮基底細胞の核に陽性で、分化度や、組織型、他臓器の腺癌との鑑別にも組織診断マーカーとして極めて有用な抗体です。

ALK 融合遺伝子陽性肺癌は腺癌以外の組織型における頻度は極めて低く、*ALK* 融合遺伝子を有する症例は、ほとんどの腫瘍細胞の細胞質にびまん性に発現します。ただし、壊死部分や固定不良領域では、偽陽性、偽陰性となる場合があります。*ALK* 検査については、体外診断用医薬品（IVD）を使用することが原則ですが、IVD を使用しない場合においては、院内で使用している自家調製法と IVD 法間の性能について検討することが望ましいとされています。

p40 は、肺の扁平上皮癌（Squamous Cell Carcinoma : Sq.C.C）のマーカーである p40 を特異的に認識する抗体です。扁平上皮癌マーカーとしての特異度は p63 よりも高いと言われています。

この機会に病理診断における精度管理・標準化について見直すきっかけにして頂ければ幸いです。

B) 精度管理概要

平成 29 年度（2017 年度）精度管理調査を図 1 のように実施しました。参加施設数は全国 46 都道府県 225 施設にのぼり、前年度より 21 施設増となっています。

【参加募集】

当機構ホームページに案内を掲載するほか、前回調査参加施設および日本病理学会の認定・登録施設を中心に書面で案内を送付しました。

【調査方法】

1. 試料発送と参加施設による染色（施設染色）と評価（施設判定）

当機構より 3 種類の TMA 組織標本、判定記入用紙および染色法等のアンケートを参加希望施設に郵送し、JPQAS ホームページからもダウンロードできるようご案内しました。免疫染色は各施設で日常実施している方法を施行して頂いた後、それぞれの抗体、コア毎に評価していただきました。この参加施設の自己評価は「施設判定」と位置付けました。染色標本および判定記入用紙およびアンケート用紙を当機構事務局に返送して頂きました。

2. 主要企業による標本作製

アンケート結果から今回の調査対象一次抗体である抗 ALK 抗体、抗 TTF-1 抗体、抗 p40 抗体は、参加施設の多くが国内販売 4 社（Roche、Leica、Agilent、ニチレイ）の製品を用いていることが判りましたので、この 4 社が販売する抗体については、それぞれの企業に推奨染色法による「企業染色標本」の作製を依頼し、これを標準対照標本として位置づけました。

3. 当機構による評価（中央判定）と総合評価

当機構による評価は、日本病理学会の精度管理委員会委員等の見識ある病理医と、日本臨床衛生検査技師会の精度管理や標準化に携わる認定病理検査技師によって構成される外部精度評価委員会および評価判定小委員会が行いました。

TTF-1 および p40 の評価

1. 腫瘍細胞について、陽性、陰性、判定不能 で評価。
2. 腫瘍細胞の染色強度を、強、中、弱、陰性 で評価。

ALK の評価

1. コア 1～8 の腫瘍細胞の判定は、陽性、陰性、判定不能で評価。
2. 腫瘍細胞の染色強度は、強、中、弱、陰性で評価。
3. 腫瘍細胞の陽性率を次の A, B, C, D の中から選択。
(A > 80%, 80% ≥ B > 50%, 50% ≥ C > 0%, D は 0%)

総合評価

腫瘍細胞の陽性・陰性判定を対象として、3つの判定値（施設染色施設判定、施設染色中央判定、中央染色中央判定）から算出した「染色評価点数」と「判定評価点数」の「合計点数」により決定しています。

判定値

- 施設染色施設判定：参加施設が自施設の標本を評価した値
- 施設染色中央判定：参加施設の標本を当機構が評価した値
- 中央染色中央判定：企業染色標本を当機構が評価した値

評価点数

- 染色評価点数（絶対値） | 染色評価点数 | = 中央染色中央判定 - 施設染色中央判定
- 判定評価点数（絶対値） | 判定評価点数 | = 施設染色中央判定 - 施設染色施設判定

総合評価

合計点数 = | 染色評価点数 | + | 判定評価点数 |

図 1 平成 29 年度 JPQAS 精度管理調査スケジュール表

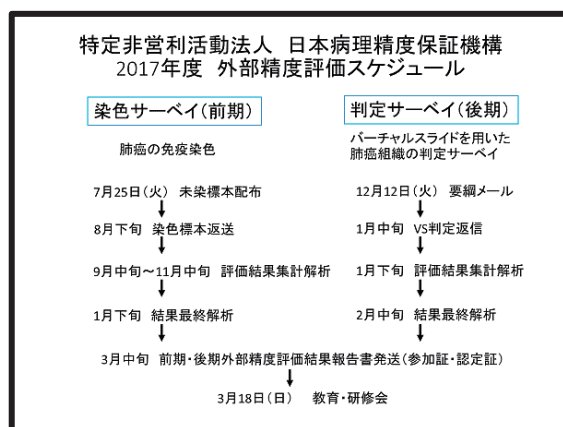


図2 各施設に配布した TMA 標本

TTF1 番号	① ② ③ ④ ⑤	P40 番号	① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧
ALK 番号	① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧		

TTF-1 TMA標本	コア1	コア2	コア3
	腺癌	扁平上皮癌 (非角化型)	腺癌
	コア4	コア5	
	扁平上皮癌 (類基底細胞型)	小細胞癌	
p40 TMA標本	コア1	コア2	コア3
	腺癌	扁平上皮癌 (非角化型)	腺癌
	コア4	コア5	コア6
	扁平上皮癌 (非角化型)	腺癌	扁平上皮癌 (非角化型)
	コア7	コア8	
	小細胞癌	扁平上皮癌 (類基底細胞型)	
ALK TMA標本	コア1	コア2	コア3
	腺癌 (充実型) ALK+	腺癌 ALK+	腺癌
	コア4	コア5	コア6
	腺癌 (乳頭型)	腺癌 ALK+	腺癌
	コア7	コア8	
	腺癌 ALK+	腺癌	

【結果概要】

1. 参加施設の使用抗体

a) 抗 TTF-1 抗体 (n=223)

ロシュ / ベンタナ	8G7G3/1	アジレント / ダコ	8G7G3/1
ロシュ / ベンタナ	SP141	アジレント / ダコ	SP141
ロシュ / ベンタナ	SPT24	アジレント / ダコ	SPT24
ニチレイ	8G7G3/1	ライカ	8G7G3/1
ニチレイ	SPT24	ライカ	SPT24
matsunami	カクテル	abcam	EPR5955(2)

クローン 8G7G3/1 は 112 施設 (50.2%)、SP141 は 36 施設 (16.1%)、SPT24 は 71 施設 (31.8%) でした。その他、EPR5955(2) が 1 施設とカクテル抗体が 3 施設で使用されていました。この 4 施設 (1.8%) は、EPR5955(2) の 1 施設とカクテル抗体の 1 施設をダコ社クローン 8G7G3/1、カクテル抗体の 2 施設をライカ社クローン SPT24 で評価しました。

b) 抗 p40 抗体 (n=219)

ニチレイ	BC28
ニチレイ	ポリクローナル
ロシュ / ベンタナ	BC28
MMP	11F12.1
abcam, BCM, DBS, MMP	BC28
abcam, BCM, CBC, CFA, DBS, MMP	ポリクローナル
matsunami	カクテル

クローン BC28 は 116 施設 (53.0%)、ポリクローナル抗体は 96 施設 (43.8%) でした。その他 7 施設 (3.2%) ではクローン 11F12.1 が 1 施設、カクテル抗体が 6 施設で使用されていました。この 7 施設 (3.2%) は、ニチレイ社クローン BC28 で評価しました。

c) 抗 ALK 抗体 (n=104)

ニチレイ	5A4	abcam	5A4
ロシュ / ベンタナ	D5F3	Thermo Fisher	5A4
ライカ	5A4	Novocastra	5A4
CST	D5F3		

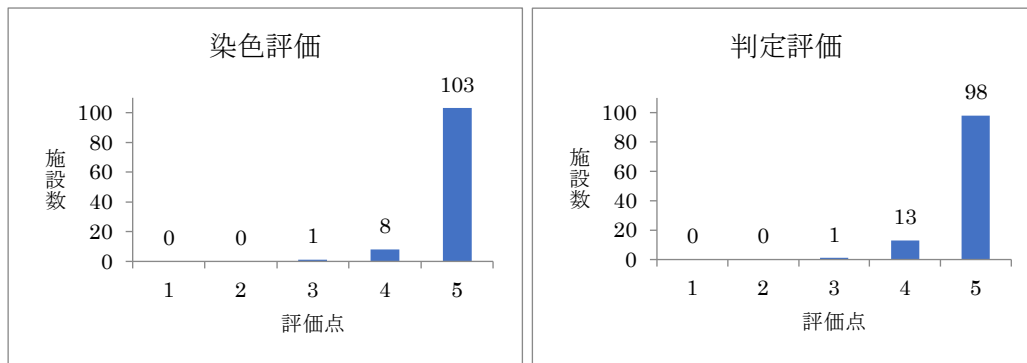
クローン 5A4 は 74 施設 (71.2%)、D5F3 は 29 施設 (27.9%) でした。

抗体情報について未解答だった 1 施設 (0.9%) は、ニチレイ社クローン 5A4 で評価しました。

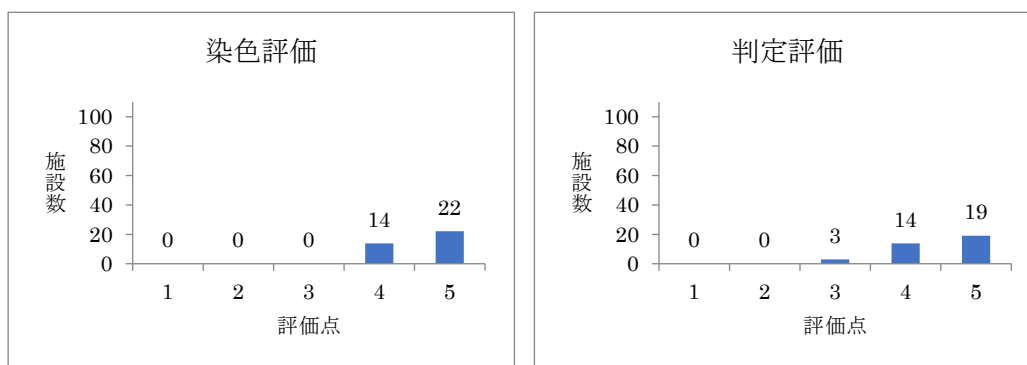
2. 各判定結果および総合評価

a) **TTF-1** 抗体について ※参加数の少ない抗体については集計に反映していません。

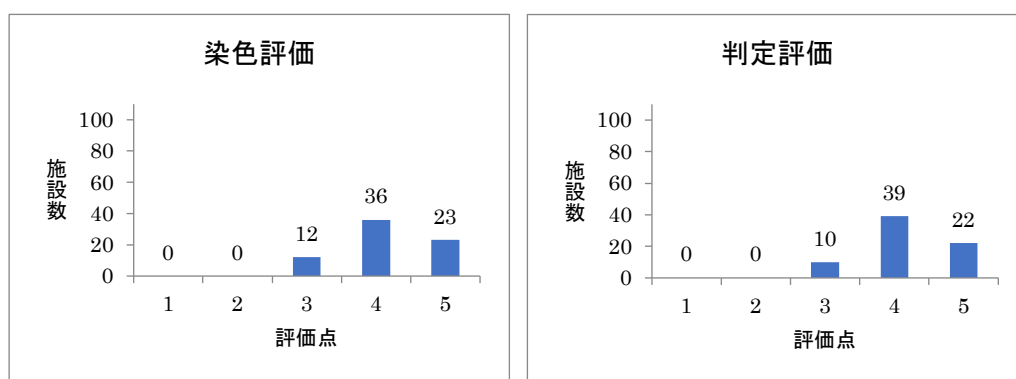
クローン：8G7G3/1 の染色評価および判定評価分布



クローン：SP141 の染色評価および判定評価分布

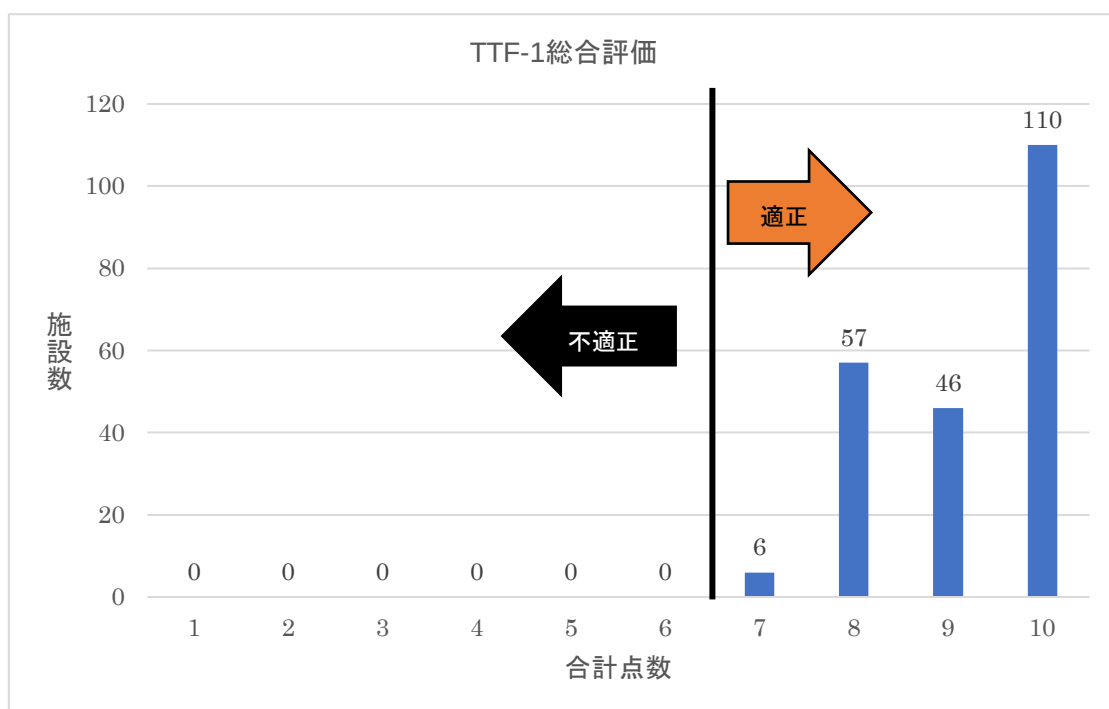
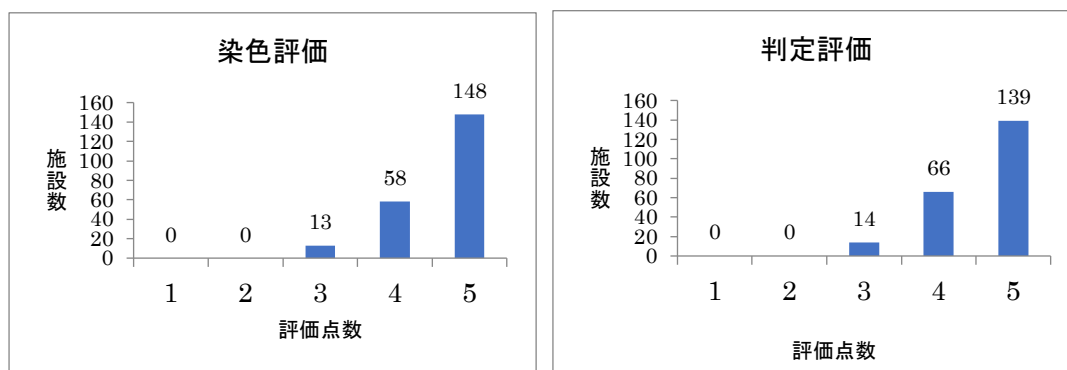


クローン：SPT24 の染色評価および判定評価分布



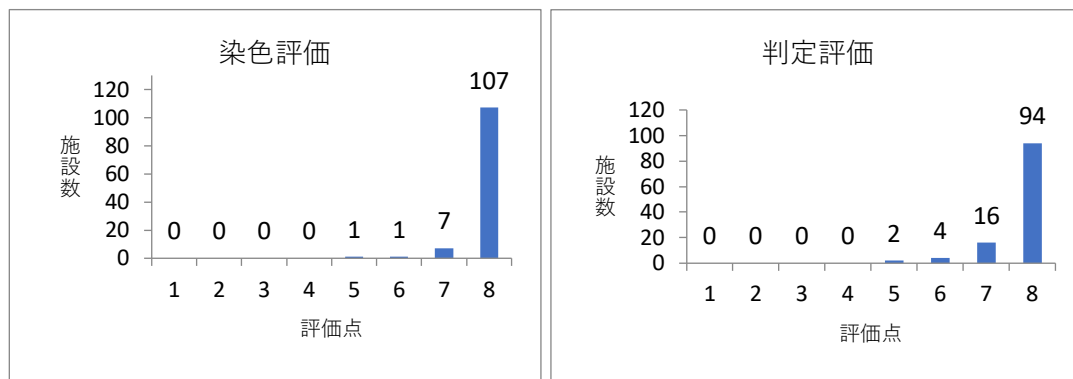
総合評価の染色評価および判定評価分布

※参加数の少ない抗体については集計に反映していません。

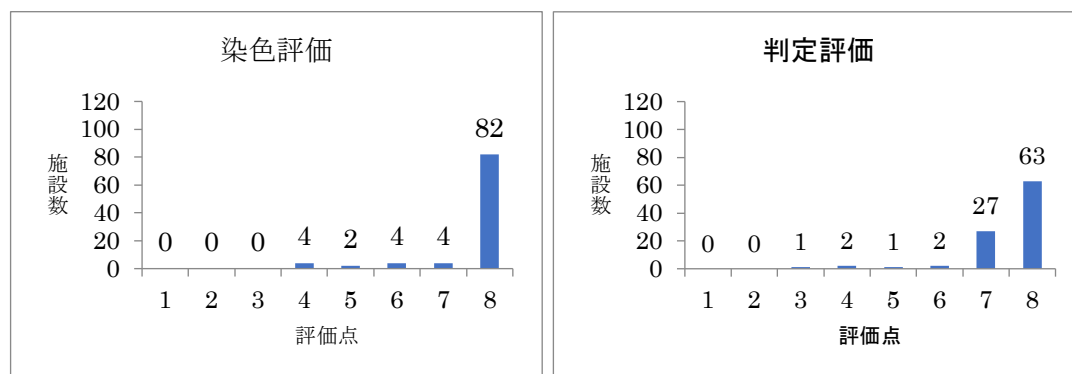


b) 抗 p40 抗体について ※参加数の少ない抗体については集計に反映していません。

モノクローナル：BC28 の染色評価および判定評価分布

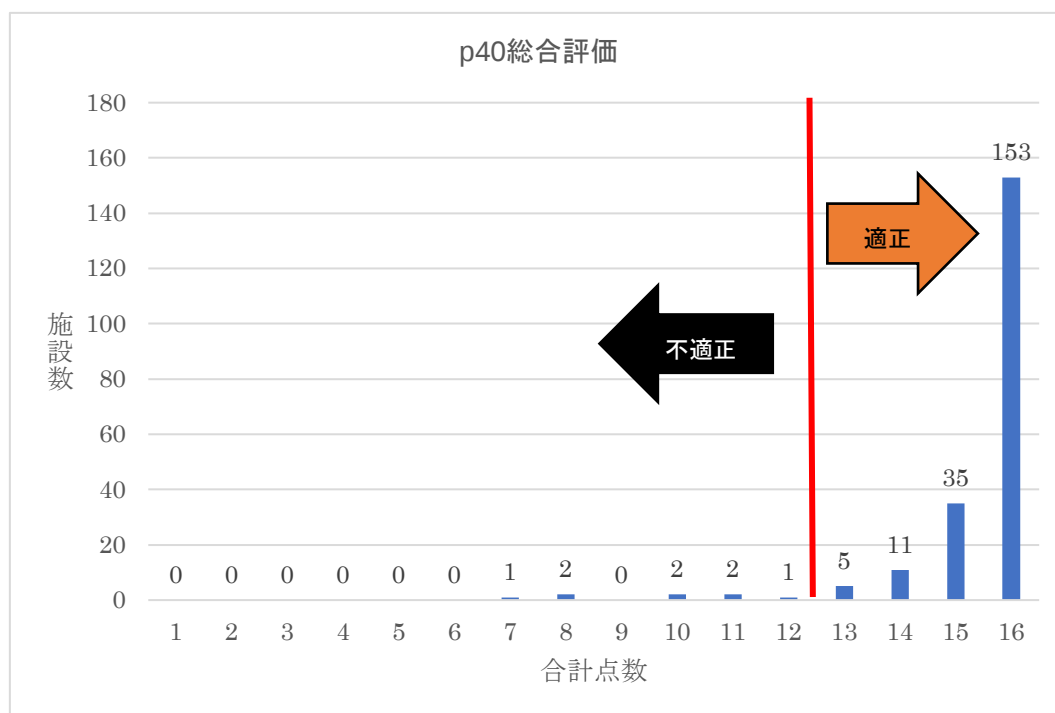
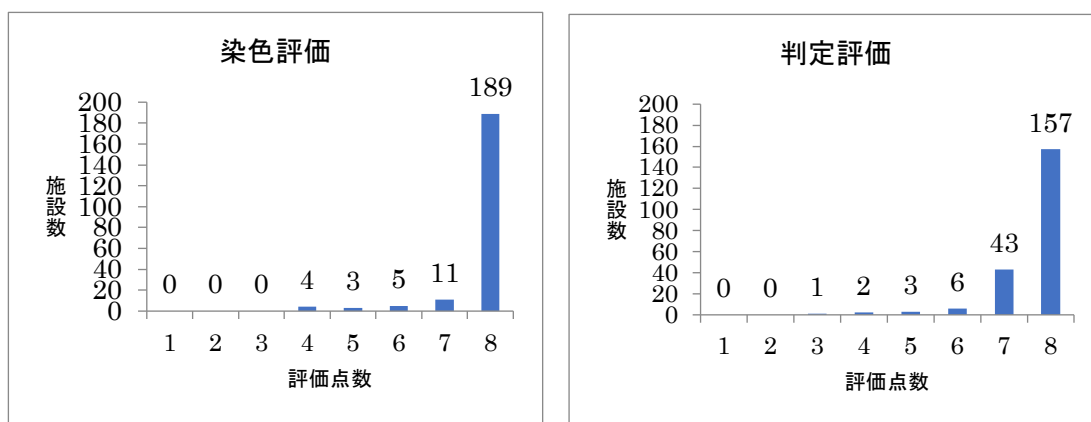


ポリクローナルの染色評価および判定評価分布



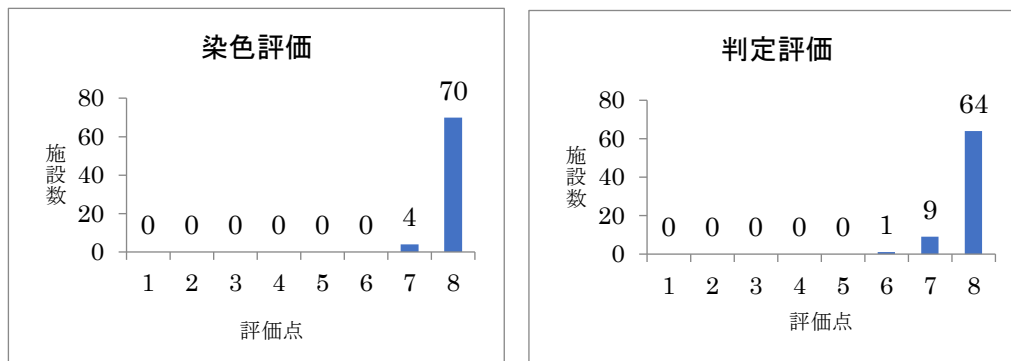
総合評価の染色評価および判定評価分布

※参加数の少ない抗体については集計に反映していません。

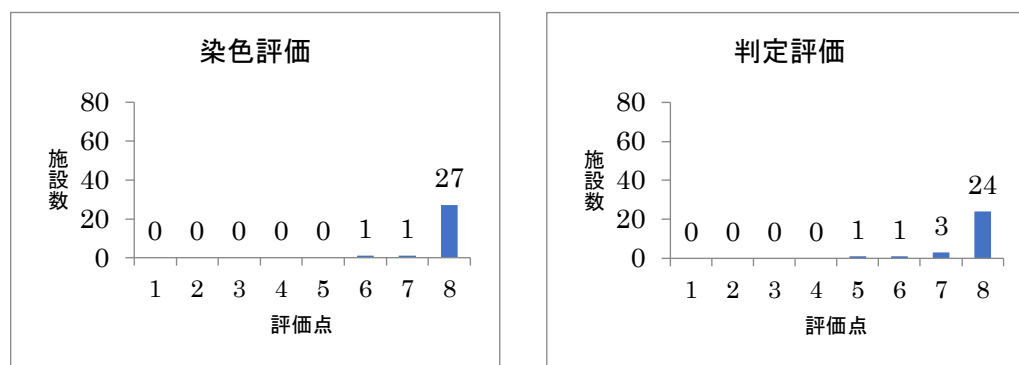


c) ALK 抗体について ※参加数の少ない抗体については集計に反映していません。

ALK (5A4) の染色評価および判定評価分布

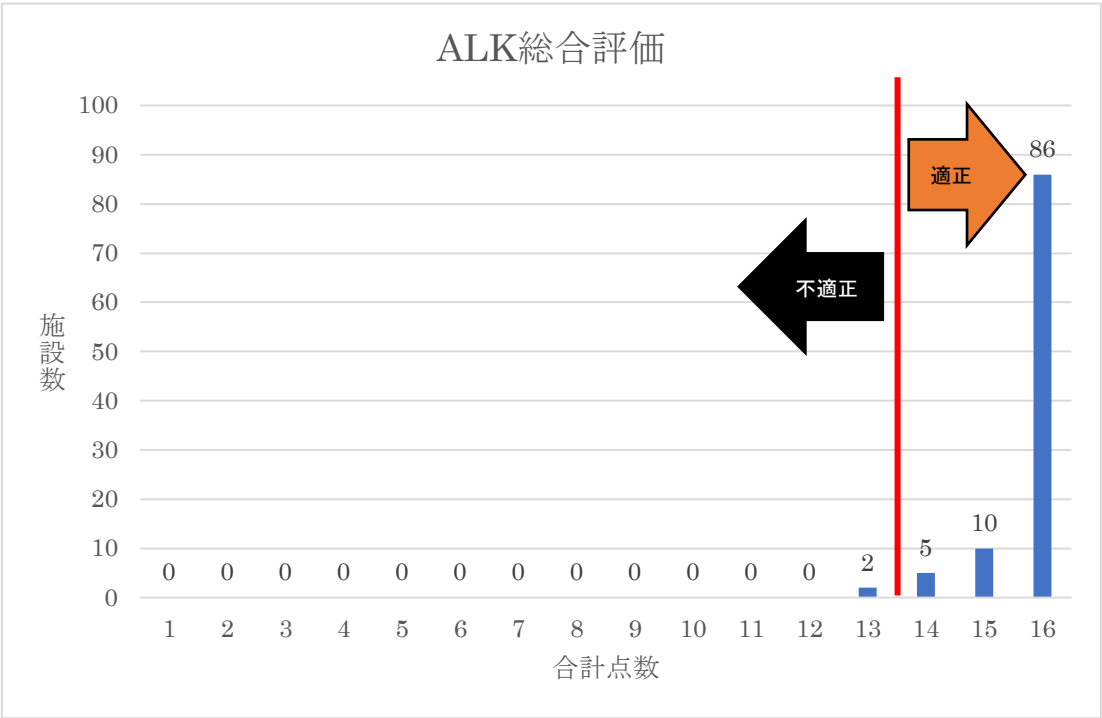
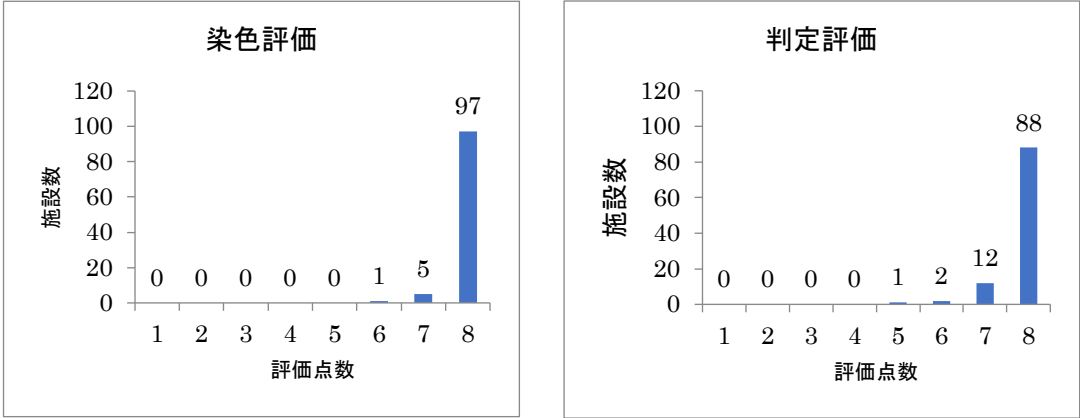


ALK (D5S3) の染色評価および判定評価分布



総合評価の染色評価および判定評価分布

※参加数の少ない抗体については集計に反映していません。



3. 結果報告書

提出頂きました標本及び施設解答についての評価・判定結果を結果報告書として、ご参加頂いた抗体毎にお送りいたしました。報告書の見方については、後述いたします。また、それぞれの抗体毎の詳細な解説も後述しておりますのでご参考ください。

精度保証機構 中央判定値
(企業染色)

企業染色を実施し、
各クローン毎の染色性を
判定しております

各施設で使用したクローンにあわせて
該当する企業染色の判定を
入れております

NPO 日本病理精度保証機構 2017 年度外部精度評価事業
前期染色サーベイ 結果報告書 (TTF-1)

施設名：

施設番号：

TTF-1 スライド番号：

染色評価 (陽性・陰性・判定不能)	コア①	コア②	コア③	コア④	コア⑤
中央染色中央判定	陽	陰	陽	陰	陽
施設染色中央判定	陽	陰	陽	陰	陽
点 数	1	1	1	1	1

染色評価点数 (5 点満点)
5

判定評価点数 (5 点満点)
5

合計点数 (10 点満点)
10

総合評価
適正

貴施設染色 中央判定値

貴施設の染色性を
当機構にて判定しております

判定評価 (陽性・陰性・判定不能)	コア①	コア②	コア③	コア④	コア⑤
施設染色中央判定	陽	陰	陽	陰	陽
施設染色施設判定	陽	陰	陽	陰	陽
点 数	1	1	1	1	1

貴施設染色 施設判定値

貴施設にて実施した染色判定です

総合評価

貴施設で行いました「染色」の評価と、
貴施設の染色を基にどの程度正確に
「判定」が出来ているかを基準に
「染色評価」と「判定評価」の合計点より
最終的な「総合評価」を出しております

適正 : 7点～
不適正 : ～6点

染色特記事項	染色強度 (強・中・弱・陰性)					非特異的染色 (強・中・弱・陰性)				
	①	②	③	④	⑤	①	②	③	④	⑤
施設染色中央判定	弱	中	中	中	中	陰	陰	陰	中	弱
施設染色施設判定	強	陰	中	陰	強	・	・	・	・	・

コメント

- ・ 染色が全体的に薄い
- ・
- ・

染色強度

貴施設にて判定いただいた
染色強度と
機構にて判定した染色強度を
比較しております
「総合評価」の対象とは
していません

コメント

貴施設の標本を判定した際の
特記事項を記載しております
「総合評価」の対象とは
していません

非特異的染色

貴施設の標本を判定した際の
非特異的染色の有無を
記載しております
「総合評価」の対象とは
していません

施設名：

施設番号：

p40 スライド番号：

染色評価 (陽性・陰性・判定不能)	コア ①	コア ②	コア ③	コア ④	コア ⑤	コア ⑥	コア ⑦	コア ⑧	染色評価点数 (8 点満点)
中央染色中央判定	陰	陽	陰	陽	陰	陽	陰	陽	8
施設染色中央判定	陰	陽	陰	陽	陰	陽	陰	陽	判定評価点数 (8 点満点)
点 数	1	1	1	1	1	1	1	1	8

判定評価 (陽性・陰性・判定不能)	コア ①	コア ②	コア ③	コア ④	コア ⑤	コア ⑥	コア ⑦	コア ⑧	合計点数 (16 点満点)
施設染色中央判定	陰	陽	陰	陽	陰	陽	陰	陽	16
施設染色施設判定	陰	陽	陰	陽	陰	陽	陰	陽	総合評価
点 数	1	1	1	1	1	1	1	1	適正

染色特記事項	染色強度 (強・中・弱・陰性)								非特異的染色 (強・中・弱・陰性)							
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
施設染色中央判定	強	中	陰	強	陰	強	陰	強	陰	強	陰	中	陰	陰	弱	陰
施設染色施設判定	強	中	陰	強	陰	強	陰	強	-	-	-	-	-	-	-	-

コメント

・染色の一部にムラあり

・
・

1

総合評価

貴施設で行いました「染色」の評価と、
貴施設の染色を基にどの程度正確に
「判定」が出来ているかを基準に
「染色評価」と「判定評価」の合計点より
最終的な「総合評価」を出しております

適正 : 13点～
不適正 : ～12点

染色強度

貴施設にて判定いただいた
染色強度と
機構にて判定した染色強度を
比較しております
「総合評価」の対象とは
していません

コメント

貴施設の標本を判定した際の
特記事項を記載しております
「総合評価」の対象とは
していません

非特異的染色

貴施設の標本を判定した際の
非特異的染色の有無を
記載しております
「総合評価」の対象とは
していません

施設名：

施設番号：

ALK スライド番号：

染色評価 (陽性・陰性・判定不能)	コア ①	コア ②	コア ③	コア ④	コア ⑤	コア ⑥	コア ⑦	コア ⑧
中央染色中央判定	陽	陽	陰	陰	陽	陰	陽	陰
施設染色中央判定	陽	陽	陰	陰	陽	陰	陽	陰
点 数	1	1	1	1	1	1	1	1

染色評価点数 (8 点満点)
8

判定評価点数 (8 点満点)
8

判定評価 (陽性・陰性・判定不能)	コア ①	コア ②	コア ③	コア ④	コア ⑤	コア ⑥	コア ⑦	コア ⑧
施設染色中央判定	陽	陽	陰	陰	陽	陰	陽	陰
施設染色施設判定	陽	陽	陰	陰	陽	陰	陽	陰
点 数	1	1	1	1	1	1	1	1

合計点数 (16 点満点)
16

総合評価
適正

染色特記事項	染色強度 (強・中・弱・陰性)								非特異的染色 (強・中・弱・陰性)								陽性率 (A>80%, 80%≥B>50%, 50%≥C>0%, D=0%)							
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
施設染色中央判定	中	中	陰	陰	強	陰	強	陰	陰	陰	陰	陰	陰	陰	弱	陰	A	A	D	D	A	D	A	D
施設染色施設判定	中	中	陰	陰	強	陰	強	陰	・	・	・	・	・	・	・	・	B	A	D	D	A	D	A	D

コメント

1

精度保証機構 中央判定値
(企業染色)

企業染色を実施し、
各クローン毎の染色性を
判定しております

各施設で使用了クローンにあわせて
該当する企業染色の判定を
入れております

貴施設染色 中央判定値

貴施設の染色性を
当機構にて判定しております

貴施設染色 施設判定値

貴施設にて実施した染色判定です

総合評価

貴施設で行いました「染色」の評価と、
貴施設の染色を基にどの程度正確に
「判定」が出来ているかを基準に
「染色評価」と「判定評価」の合計点より
最終的な「総合評価」を出しております

適正 : 14点～
不適正 : ～13点

染色強度

貴施設にて判定いただいた
染色強度と
機構にて判定した染色強度を
比較しております
「総合評価」の対象とは
していません

コメント

貴施設の標本を判定した際の
特記事項を記載しております
「総合評価」の対象とは
していません

非特異的染色

貴施設の標本を判定した際の
非特異的染色の有無を
記載しております
「総合評価」の対象とは
していません

陽性率

貴施設にて判定いただいた
陽性率と
機構にて判定した陽性率を
比較しております
「総合評価」の対象とは
していません

NPO 日本病理精度保証機構 2017 年度外部精度評価事業
後期フォトサーベイ 結果報告書

施設名：

施設番号：

合計点数 (15点満点)

総合評価
適正

施設解答

各施設に解答頂きました施設解答を記載しております。

中央解答

問題毎の中央解答を記載しております。

問題番号

点数

問題毎に点数欄に枠がある問題は1解答毎に施設解答と中央解答の一致、不一致を点数化し、一致の場合は加点となります。

点数欄が2つの問題にまたがっている問題は解答が2つ一致した場合にのみ加点としております。1つのみ一致の場合での加点はございません。

問題番号	施設解答	中央解答	点数
LC1		⑤ 転移性肺腫瘍	
		腎癌（淡明細胞型腎細胞癌）	
LC2	1	① 非小細胞癌（腺癌示唆）	
	2	陰性	
LC3		④ 小細胞癌	
LC4		⑤ 転移性肺腫瘍	
		乳癌	
LC5		② 非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	
LC6	1	③ 非小細胞癌（NOS）	
	2	陰性	
	1	① 非小細胞癌（腺癌示唆）	
LC7	2	陽性	
	3	高発現（約 90%）	
LC8		② 非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	
LC9	1	② 非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	
	2	低発現（約 30%）	
		⑤ その他の腫瘍 ※1	
LC10		粘表皮癌	

※1：ただし、LC10は④転移性肺腫瘍（粘表皮癌）も正解とした。

評価判定

施設解答と中央解答の一致、不一致を問題毎に点数化し、総合評価欄にて後期フォトサーベイの総合点数を記載しております。

適正 : 12点～
不適正 : ～11点

C) 前期染色サーベイの結果と考察

① TTF-1 の免疫染色について

《症例の選択と TMA の作製》

- ・TMA を作製した標本は、症例 1 が腺癌、症例 2 が扁平上皮癌（非角化型）、症例 3 が腺癌、症例 4 が扁平上皮癌（類基底細胞型）、症例 5 が小細胞癌であった。
- ・今回の前期フォトサーベイのため未染色標本が 250 枚以上必要であったため TMA (tissue microarray) は 2 個 (TTF-1-A と TTF-1-B) のブロックを作製した。ただし、この 2 個のブロックは、同一患者の同一ブロック内の近接した部位から TMA を作製した。また、TMA 作製と使用にあたっては学内の倫理審査を通した。
- ・癌細胞の量に関しては、IHC における適切な評価が可能な標本であった。しかし、後半の症例では一部扁平上皮癌の量の少ない標本が認められた。
- ・内部コントロールとして TMA 標本の一部には、Ⅱ型肺胞上皮が含まれており、陽性反応が認められた。

《TTF-1 免疫染色の実際》

- ・8G7G3/1 のクローンは、腺癌や小細胞癌の核に陽性、扁平上皮癌は陰性で、免疫染色の判定に大きな問題点は認められなかった。しかし、SP141 と SPT24 のクローンでは腺癌の核に陽性であったが、扁平上皮癌の一部の核にも陽性像がみられた。
- ・免疫染色装置に関しては、ニチレイのオートステイナーは問題なかったが、ヒストステイナーでは染色ムラなどのみられる標本が認められた。またこのヒストステイナーで 8G7G3/1 のクローンを使用した標本では、まれに染色不十分であった。また、Roche の一部の標本では、切片のやや剥離傾向がみられた。
- ・用手法に関してニチレイの SPT24 のクローンでは、染色ムラなどの染色不良例が認められた。8G7G3/1 ではまれに染色性が弱い例が認められた。

《各企業染色の TTF-1》

- ・(8G7G3/1) 最後に各企業染色が行った TTF-1 免疫染色の結果を示す(別紙に写真を掲載)。DAKO の 8G7G3/1 では、判定に問題なかった。ただし、腺癌や小細胞癌の背景に弱陽性が、扁平上皮癌では細胞質や背景に弱陽性がみられた。Roche の 8G7G3/1 では、判定に問題なかった。ただし、腺癌の核の陽性反応が若干弱く、症例 3 の腺癌では陽性細胞と陰性細胞が混在して認められた。
- ・(SP141) Roche の SP141 では、判定に問題なかった。ただし、症例 2 では、扁平上皮癌の核の一部に陽性反応がみられた。
- ・(SPT24) Leica の SPT24 では、判定に問題なかった。ただし、症例 2 と 4 では扁平上皮癌の核の一部に陽性がみられ、症例 4 の扁平上皮癌では背景の一部にも陽性反応が認められた。ニチレイの SPT24 では、染色の判定に問題はなかった。ただし、症例 2 と 4 の扁平上皮癌の核の一部に陽性像がみられ、症例 4 の扁平上皮癌では背景の一部にも弱陽性反応がみられた。

《考察》

・今回のサーベイの結果から腺癌と扁平上皮癌の鑑別においては、8G7G3/1 のクローンが最も有用と考えられた。SPT24 や SP141 のクローンを日常業務で使用する場合は、腺癌だけではなく、扁平上皮癌の核の一部にも陽性反応がみられることを知った上で判定する必要がある。文献的に3つのクローンは、腺癌と扁平上皮癌を鑑別する上で、感度・特異度とも100%ではないことを強調しておきたい。また、自施設での検体の取扱い、ブロックの作製、染色法、評価などの内部精度管理を日ごろから行うことが重要と言える。適切な陽性・陰性コントロールにおいて免疫染色を行うことも大切である。

② p40 の免疫染色について

《症例の選択と TMA の作製》

・TMA を作製した標本は、症例 1 が腺癌、症例 2 が扁平上皮癌（非角化型）、症例 3 が腺癌、症例 4 が扁平上皮癌（非角化型）、症例 5 が腺癌、症例 6 が扁平上皮癌（非角化型）、症例 7 が小細胞癌、症例 8 が扁平上皮癌（類基底細胞型）であった。

・今回の前期フォトサーベイのため未染色標本が 250 枚以上必要であったため TMA は 2 個（p40-A と p40-B）のブロックを作製した。ただし、この 2 個のブロックは、同一患者の同一ブロック内の近接した部位から TMA を作製した。尚、TMA の作製とその使用に関しては、学内の倫理審査を通した。

・癌細胞の量に関しては、IHC における適切な評価が可能な標本であった。
・内部コントロールとして TMA 標本の一部には、細気管支上皮が含まれており、陽性反応が認められた。

《p40 免疫染色の実際》

・P40 の抗体に関しては、BC28 のクローンあるいはポリクローナル抗体を使用していた。
・一部の標本で内部コントロールに相当する細気管支上皮の基底細胞の核に陽性反応が弱いものや陰性のものが認められた。
・一部の症例で扁平上皮癌細胞の核に陽性がみられる以外にも、癌細胞の細胞質や細胞膜、間質細胞に陽性反応がみられた。
・小細胞癌や腺癌の核の一部、マクロファージの細胞質に陽性が認められた。
・染色性が標本全体に弱いものがみられた。また、染色性が全体にうすい標本は、内部コントロールが陰性であった。
・背景にあるリンパ球が陽性になっていた。また、扁平上皮癌の核に弱い反応が認められた。
・BC28 のクローンと比較してポリクローナル抗体では、非特異反応が目立っていた。ただし、BC28 のクローンでも一部の標本で染色ムラがみられた。

《各企業染色の p40》

・(BC28)．最後に各企業染色が行った p40 免疫染色の結果を示す（別紙に写真を掲載）。Roche の BC28 では、判定に大きな問題点はなかった。ただし、症例 2 と 6 では、背景の一部に弱陽性反応が認められた。ニチレイの BC28 では、判定に大きな問題点はなかった。
・(ポリクローナル)．ニチレイのポリクローナル抗体では、症例 2,4,6,8 の扁平上皮癌の核

に陽性であったが、それぞれ背景の一部に陽性がみられた。また、症例 2 と 8 では、癌細胞の細胞質に弱陽性反応がみられた。また、症例 1,3,5,7 の腺癌や小細胞癌の細胞質や背景に陽性あるいは弱陽性反応がみられた。

《考察》

・今回のサーベイの結果から腺癌と扁平上皮癌の鑑別においては、BC28 のクローンは有用であった。しかし、ポリクローナル抗体は核以外の細胞質や背景にも非特異的な反応がみられ、日常業務での使用は推奨されないと考えられた。文献的にも腺癌と扁平上皮癌の鑑別する上で p40 は有用な抗体であるが、腺癌の一部でも陽性反応がみられるので注意しておかなければならない。TTF-1 と同様に自施設での検体の取扱い、ブロックの作製、染色法、評価などの内部精度管理を日ごろから行うことが重要である。適切な陽性・陰性コントロールにおいて免疫染色を行うことも大切である。

③ ALK の免疫染色について

《症例の選択と TMA の作製》

・TMA を作製した標本は、症例 1 が腺癌（充実型）、症例 2 と 3 が腺癌、症例 4 が腺癌（乳頭型）、症例 5,6,7,8 が腺癌であった。このうち、症例 1,2,5,7 は ALK 陽性肺癌であった。なお、この 4 症例とも ALK 陽性肺癌は、ALK-IHC と FISH とともに陽性の症例を選択した。

・今回の前期フォトサーベイのため未染色標本が 150 枚以上必要であったが、1 個の TMA から作製可能であった。すなわち、全施設同一ブロックからの切片であった。この TMA の作製と使用にあたっては学内の倫理審査を通した。

・癌細胞の量に関しては、IHC における適切な評価が可能な標本であった。

《ALK 免疫染色の実際》

・症例 1 の ALK 陽性肺癌では、一部の施設が弱陽性あるいは陰性であった。また、一部の施設で間質に陽性反応が認められた。

・症例 2 の ALK 陽性肺癌では、一部の施設が陰性であった。

・症例 4 の ALK 陰性例において、癌細胞の核の一部が陽性であった。

・症例 5 の ALK 陽性肺癌では、一部の施設が陰性であった。

・用手法では症例 2 で弱い染色性が認められた。

《各企業染色の ALK》

・(5A4). 最後に各企業が行った ALK 免疫染色の結果を示す（別紙に写真を掲載）。ニチレイの 5A4 では、判定に大きな問題点はなかった。Leica の 5A4 でも判定に大きな問題点はなかったが、ニチレイの 5A4 と比較して弱い染色性であった。

・(D5F3). Roche の D5F3 の染色性も大きな問題点はなかったが、ニチレイの 5A4 と比較してより濃い染色性であった。一部癌細胞以外の部分に非特異反応がみられた。

・(ALK-1). 一方、DAKO の ALK-1 は症例 1～8 の 8 症例ともに陰性であった。

《考察》

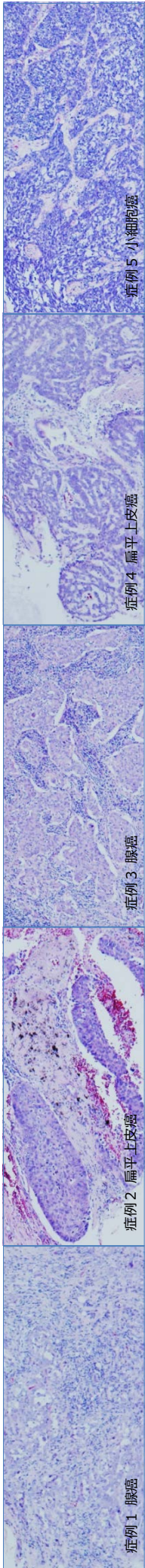
・今回のサーベイの結果から ALK 陽性肺癌の診断においては、5A4 や D5F3 のクローンは有用と考えられた。しかし、各メーカーの染色法により染色性がやや異なっており、ニチレ

イ（5A4）の染色性と比較して、Leica（5A4）の染色性はうすく、Roche（D5F3）の染色性は濃い傾向が認められた。そのため、免疫染色プラットフォームとクローンをよく理解した上で ALK 免疫染色を判定する必要がある。また、自施設での検体の取扱い、ブロックの作製、染色法、評価などの内部精度管理を日ごろから行うことが重要である。適切な陽性・陰性コントロールをおいて免疫染色を行うことも大切である。

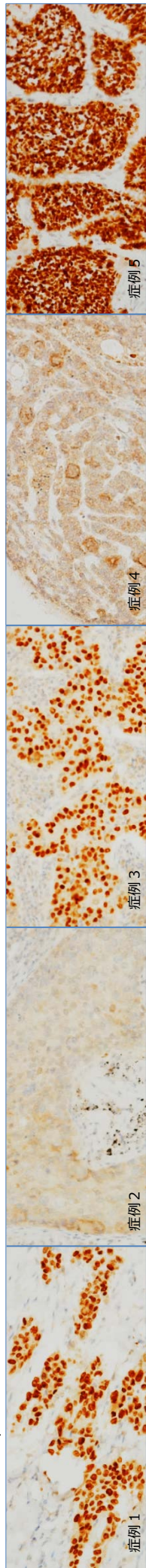
・ALK の免疫染色は、TTF-1 や p40 の染色と異なり、使用したい薬剤により体外診断薬が異なることは言うまでもない。アレクチニブ（アレセンサ®）にはニチレイのヒストファイน์ ALK iAEP®キット（用手法/ヒストステイナー用、一次抗体 5A4）が、クリゾチニブ（ザーコリ®）とセリニチブ（ジカディア®）には、ロシュ/ベンタナ社のベンタナ OptiView DAB ユニバーサルキット+ベンタナ OptiView 増感試薬（ベンタナ ベンチマークシリーズ、一次抗体 D5F3）で行わなければならない。

TTF-1染色組織像(各企業染色)

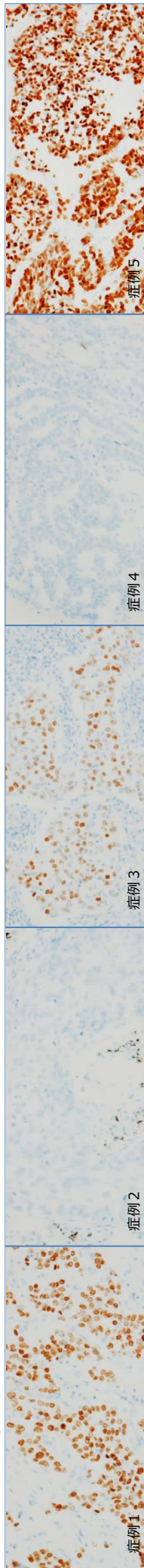
HE



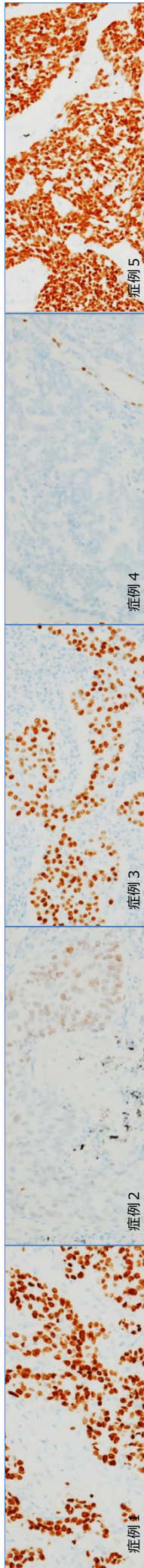
DAKO 8G7G3/1



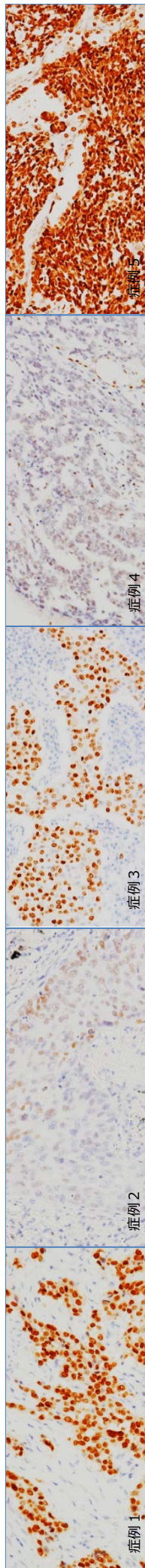
Roche 8G7G3/1



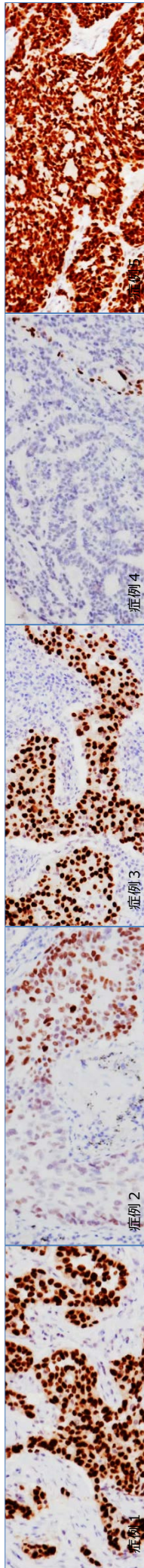
Roche SP141



Leica SPT24



ニチレイ SPT24

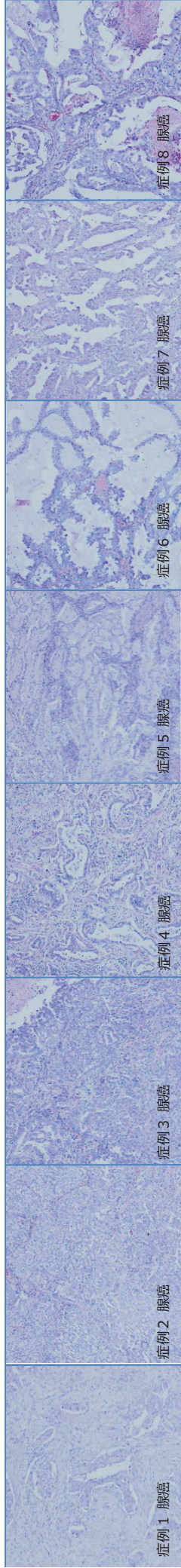


p40染色組織像(各企業染色)

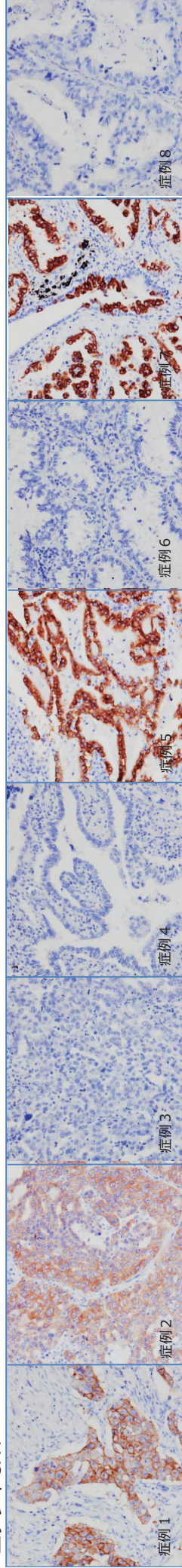
HE	症例1 腺癌	症例2 扁平上皮癌	症例3 腺癌	症例4 扁平上皮癌	症例5 腺癌	症例6 扁平上皮癌	症例7 小細胞癌	症例8 扁平上皮癌
ROCHE BC28	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6	症例7	症例8
ニチレイ BC28	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6	症例7	症例8
ニチレイ ポリクローマル	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6	症例7	症例8

ALK染色組織像(各企業染色)

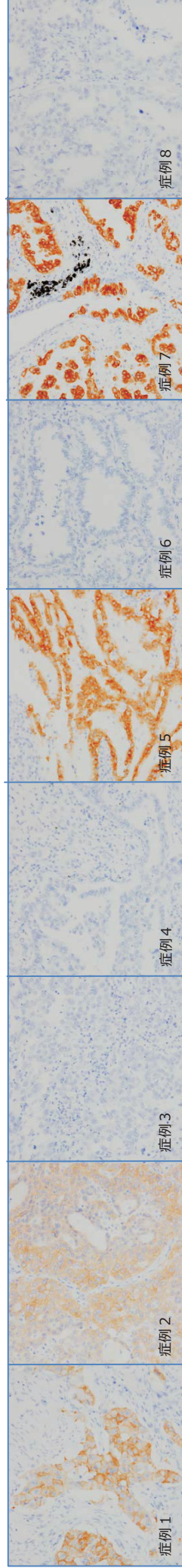
HE



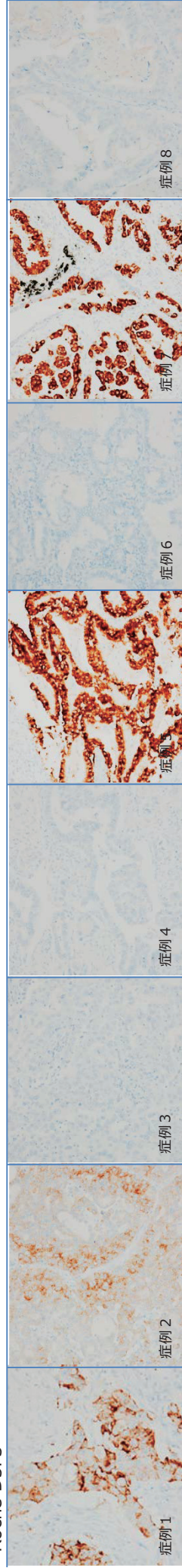
ニチレイ 5A4



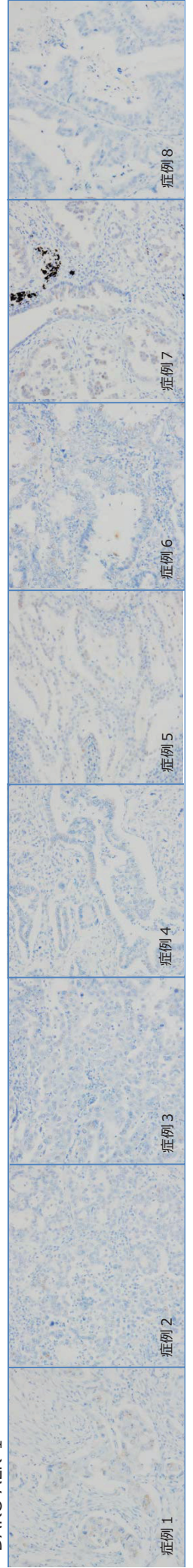
Leica 5A4



Roche D5F3



DAKO ALK-1

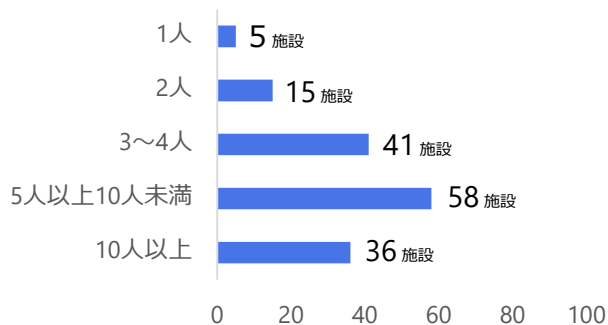


① 対象施設の形態

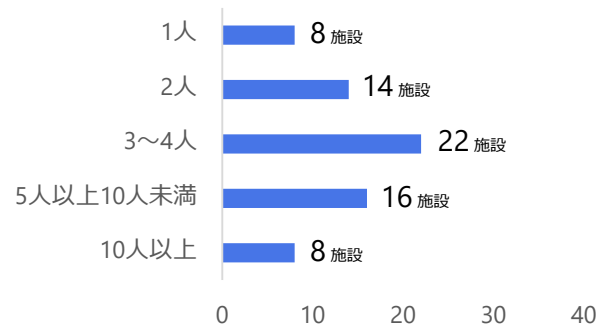


②-1 対象施設内の病理医の人数

・がん診療連携拠点病院（155施設）

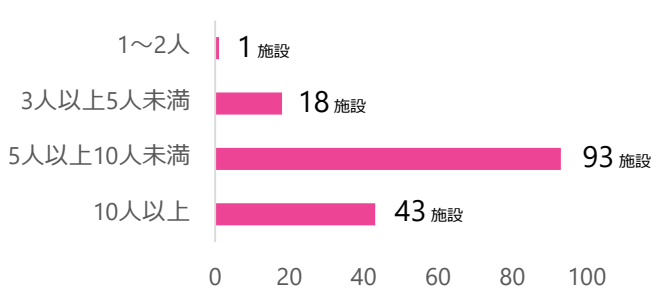


・拠点病院以外（68施設）

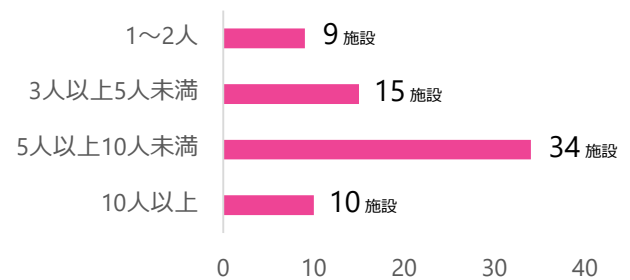


②-2 対象施設内の技師の人数

・がん診療連携拠点病院（155施設）



・拠点病院以外（68施設）



③ 自施設で行っている内容

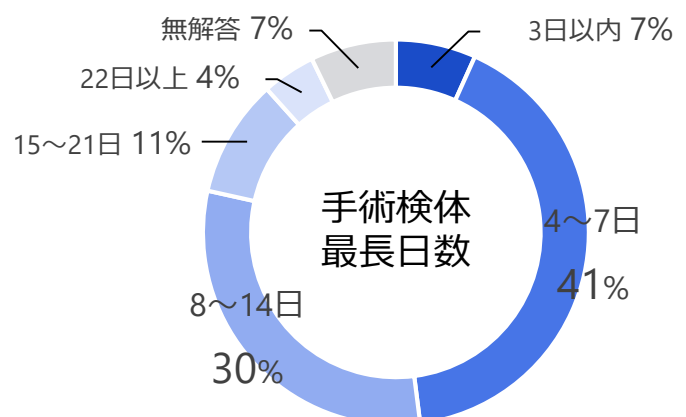
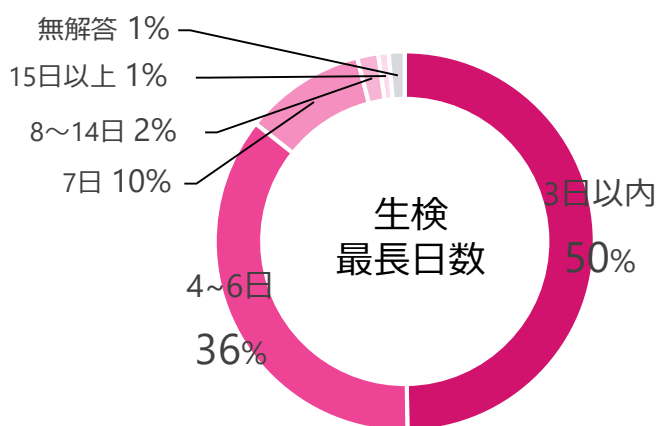
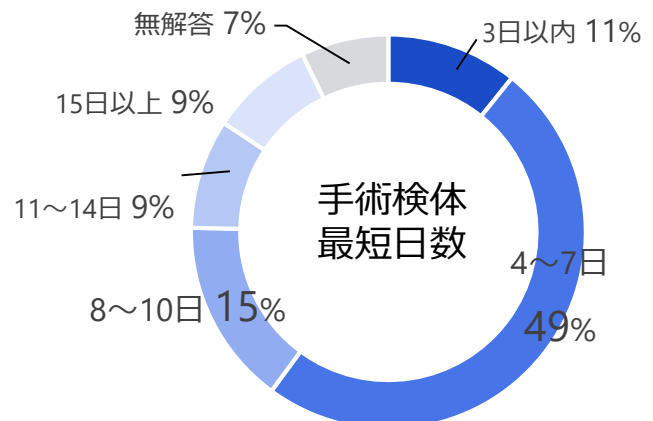
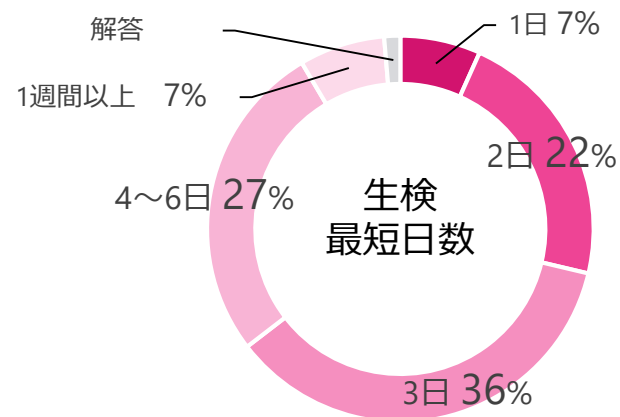
固定・標本作製・薄切 223 施設 100.0%

TTF-1	219 施設 99.1%	PD-L1	36 施設 16.3%
p40	215 施設 97.3%	ROS1	11 施設 5.0%
Napsin A	211 施設 95.5%		
CK5/6	201 施設 91.0%		
ALK	99 施設 44.8%		

ALK 16 施設 7.2%
ROS1 6 施設 2.7%

EGFR遺伝子 12 施設 5.4%
ALK遺伝子 4 施設 1.8%
ROS1遺伝子 4 施設 1.8%

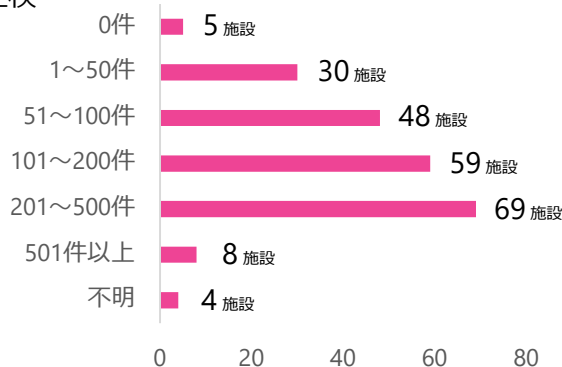
④ TAT（Turn Around Time：検体提出から結果報告までに要する期間）



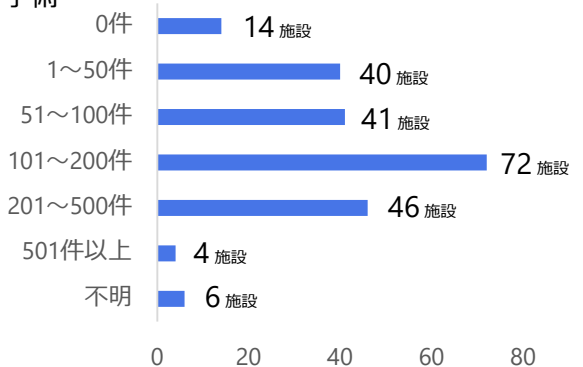
⑤ 施設状況について

1) 肺病変の件数（年間）

・生検

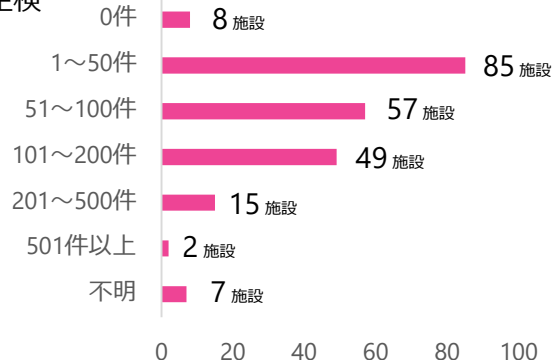


・手術

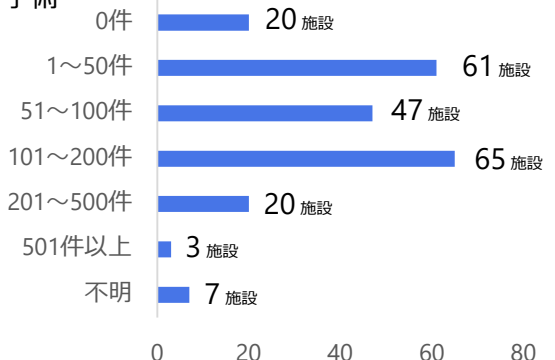


2) 肺癌と診断された件数（年間）

・生検

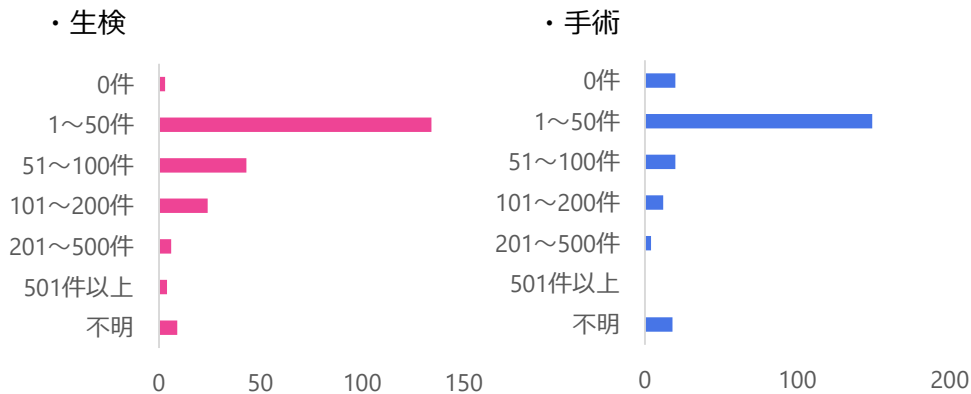


・手術



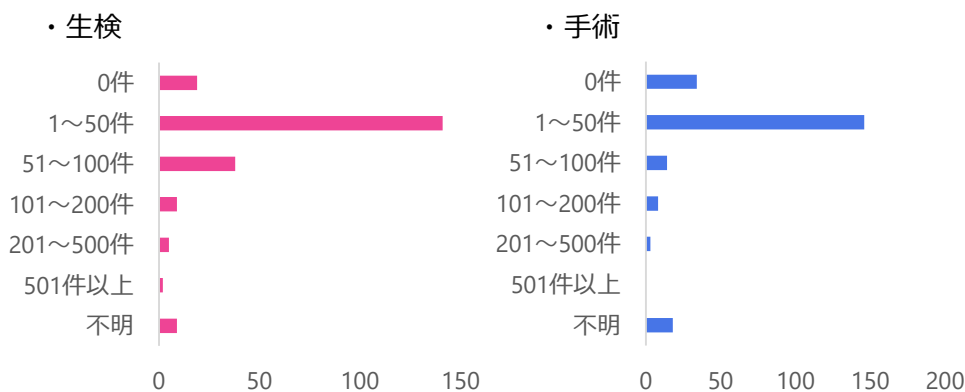
3) 免疫染色が施行された件数（年間）

①TTF-1



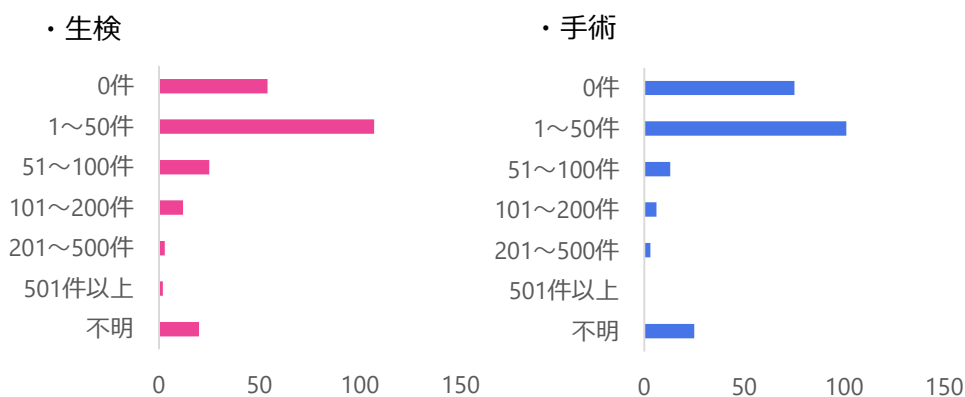
生検・手術検体ともに
1～50件 が多い

②p40



生検・手術検体ともに
1～50件 が多い

③ALK

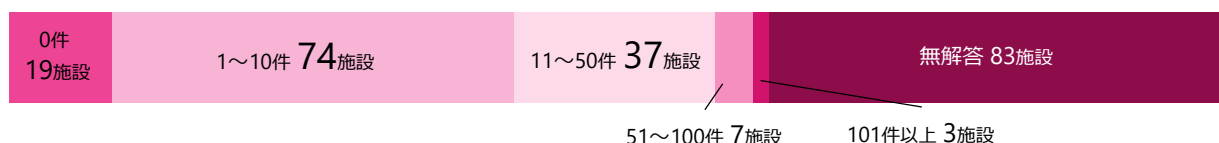


生検・手術検体ともに
1～50件 が多い

4) ALK-FISHが施行された件数（年間）

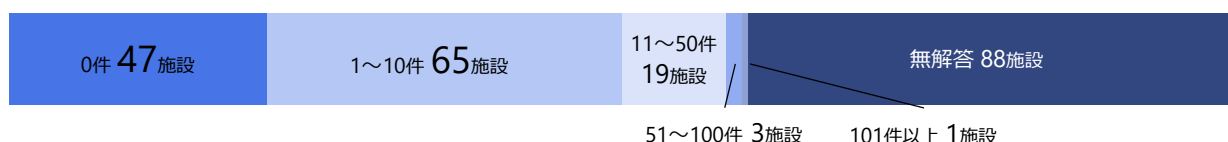
・生検

(PCR施行は 8/223施設 うち100件以上は1施設)



・手術

(PCR施行は 5/223施設 うち100件以上は1施設)



4) 生検と手術材料の両方を用いてALK検索を行うことはありますか

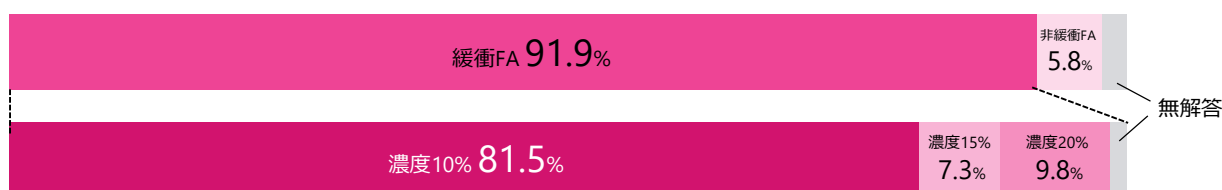
- ない・・・119施設（53.4%）
- ある・・・80施設（35.9%）
- 無解答・・・24施設（10.7%）

⑥ 固定について

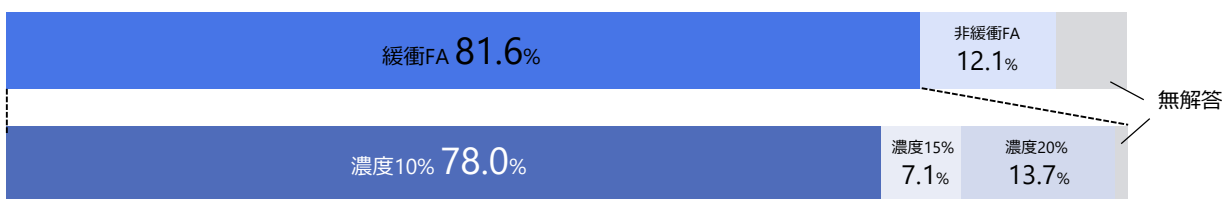
A 初回固定液について

A-1) 使用している初回固定液について詳細を教えてください

- ・生検 市販調整済FAを使用している・・・200施設（89.7%）



- ・手術 市販調整済FAを使用している・・・180施設（80.7%）



A-2) 初回固定液の再利用の有無を教えてください

- ・生検 新調した固定液を使用・・・217 施設（97.3%）
- ・手術 新調した固定液を使用・・・154 施設（69.0%）

交換目安：回数管理，月一回，汚れたら交換など

A-3) 再利用において注意されていることはありますか

- ・利用回数の記録 ・カレンダー管理 ・注入用は新調液を使用
- ・汚れや混濁を認めたら交換 ・ろ過 など

A-4) 固定において特殊な処理をされていることはありますか

- ・灌流固定 ・脂肪の多い検体は注射器を用いて固定 ・至急の時は60℃に加温固定
- ・EDTA加緩衝ホルマリンを使用 ・手術材料はユフィックスを使用
- ・ゲフリールの時に腫瘍の一部を固定し、コンパニオン用の検体をつくり病理検査室で管理 など

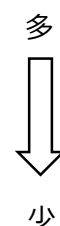
B 初回固定操作について

B-1) 誰が初回固定操作を行っていますか

- ・生検 臨床医（採取医）＞看護師＞技師＞病理医
- ・手術 臨床医（採取医）＞技師＞病理医＞看護師

B-2) 手術材料の初回固定方法について教えてください（複数解答可）

- 割を入れてから固定
- 病変周囲にホルマリンを注射器で注入してから固定
- 気管支からホルマリンを注入してから固定
- 割を入れずにそのまま固定



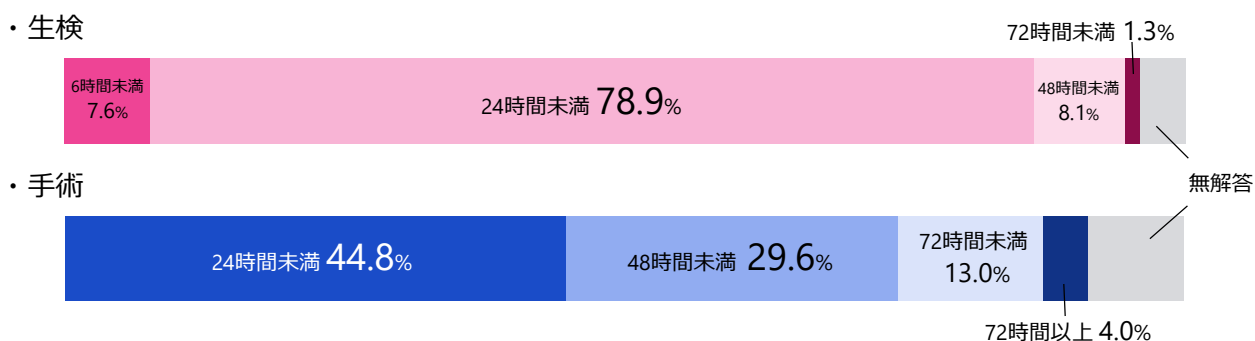
B-3) 検体採取後から1時間以内に初回固定液に入れていきますか

- ・生検 1時間未満 208 施設 93.3%
- ・手術 1時間未満 97 施設 43.5%
- 1時間以上 3時間未満 30 施設 13.5%
- 3時間以上 11 施設 4.9%
- 不明 85 施設 38.1%

B-4) 初回固定までの検体保管方法を教えてください（複数解答可）

- ・生検 直接固定液に入れる 201 施設 90.1%
- ・手術 直接固定液に入れる 75 施設 31.6%
- 冷所保管 47 施設 19.8%
- 室温保管 66 施設 27.8%
- 生理食塩水に浸水 13 施設 5.5%
- 不明 36 施設 15.2%

B-5) 初回固定時間について教えてください



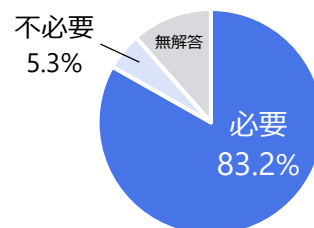
B-6) 初回固定時間記録の有無について教えてください

- 実施している 6 施設
- 実施していない 207 施設
- 検体の種類や状況により実施 4 施設
- 無解答 6 施設

B-7) 固定操作マニュアルの保有とその必要性について教えてください

固定操作マニュアルがある・・・・・・・・・・ 67 施設
 固定操作マニュアルがない・・・・・・・・・・ 113 施設
 今後整備する予定である・・・・・・・・・・ 37 施設
 無解答・・・・・・・・・・ 6 施設

〈固定操作マニュアルがないと答えた施設において〉

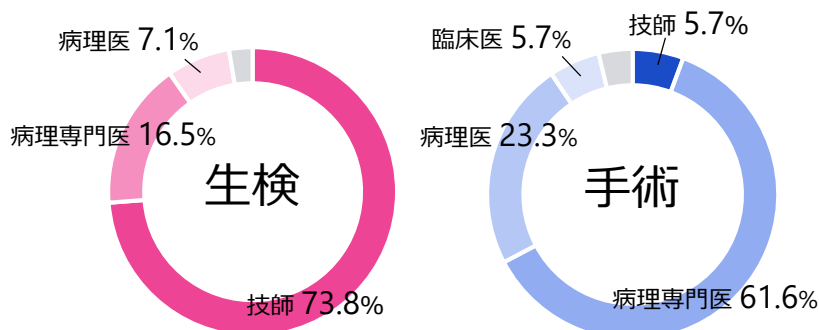


B-8) 初回固定操作で工夫されている点があれば教えてください

- ・腫瘍の一部は陰圧をかけて固定 ・IHCの予想される検体で切り出し日時（曜日）を配慮
- ・採取時間を臨床医に記載してもらう ・IHCのために3時間以上固定しない
- ・午後に提出された生検は100分MW固定 ・表面が乾燥しないようにガーゼで覆う
- ・腫瘍の一部は10%緩衝ホルマリン、残りは20%緩衝ホルマリン固定
- ・割を入れたことで生じる隆起を防止するためにコルク版やガーゼを使用
- ・臨床医と病理医、技師で肉眼観察し、臨床側の要望を確認
- ・採取後に一定時間固定されない場合は臨床医に促し、承諾が得られれば病理で固定 など

⑦ 切り出しについて

1) 切り出しは誰が行っていますか



2) 手術材料の切り出しの厚さについて

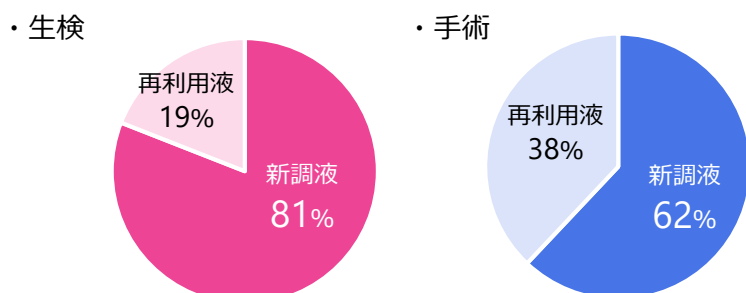
4-6mm が多い

最も薄い：2mm
 最も厚い：40mm

3) 切り出し後の追加固定について教えてください

- ・生検 追加固定無・・・・・・・・・・ 183施設（82.1%）
- ・手術 追加固定有・・・・・・・・・・ 185施設（83.0%）
 追加固定される施設のうち約84.3%の施設で緩衝ホルマリンを用いている

4) 追加固定液の再利用の有無について教えてください

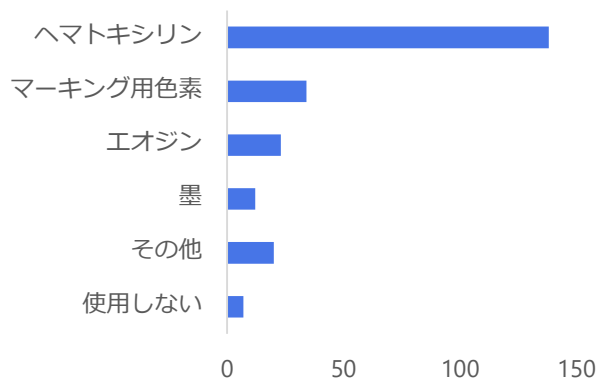


新調した固定液を使用している割合が高いが、再利用液の両方を用いる施設も多かった

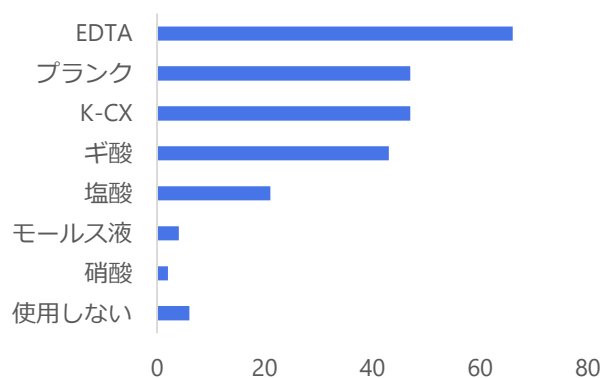
5) 再利用について注意していることがあれば教えてください

・使用回数の記録 ・透明度 ・汚れてきたら交換 ・生検は新調液を使用している など

6) 微小検体のマーキングには何を使用していますか

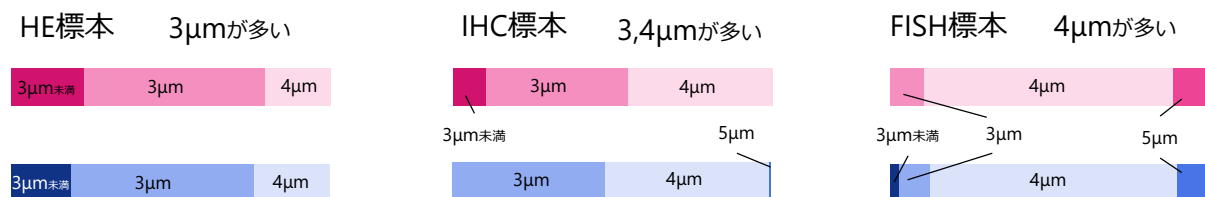


7) 脱灰操作に用いる脱灰液を教えてください



⑧ 薄切について

1) 組織切片の厚さについて教えてください 生検：赤 手術材料：青



2) 組織切片の厚さを変えている理由について教えてください

・外注先の指定があるため ・医師の要望 ・必要に応じて など

3) 薄切後の乾燥温度・時間、また使用しているスライドガラスについて教えてください

HE標本	IHC標本	FISH標本
生検・手術ともに 51～60℃が多い	生検・手術ともに 41～50℃が多い	生検・手術ともに 41～50℃が多い
乾燥温度にかかわらず、 乾燥時間15～60分が多い	40℃未満の施設では、 乾燥時間1～24時間が多い 40℃以上の施設では、 乾燥時間15～60分が多い	60℃未満の施設では、 乾燥時間1～24時間が多い 60℃以上の施設では、 乾燥時間15～60分が多い
松波 65.6% (ファインフロスト) 武藤 34.4% (スターフロスト)	松波 60.6% (プラチナプロ) 武藤 39.4% (NEW SilaneⅢ)	松波 62.6% (プラチナプロ) 武藤 37.4% (NEW SilaneⅢ)

4) 自施設でALK（IHC・FISH）検査を行っている施設において、検査までの切片の保管日数と保管温度を教えてください（対象施設：92施設）

（保管日数）

IHC・FISHともに3日以内に行っている施設が多い（76.1%）

（保管温度）



乾燥（51-60℃）したのち室温で保管している施設も含む

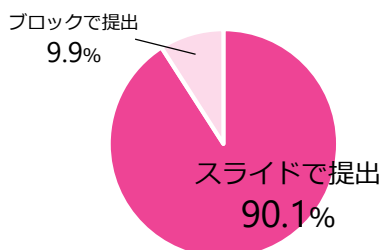
うち当日中に行っているのは
35.7%

5) 自施設でALK（IHC・FISH）検査を行っている施設において、保管で工夫されている点がありましたら教えてください（対象施設：92施設）

- ・カバーシールを貼る
- ・1週間超える場合は冷蔵（凍）保管
- ・染色日に薄切
- ・暗室保管
- ・1例ずつ容器に入れる
- など

6) 外注委託でALK検査を行っている施設において、検体提出方法について教えてください

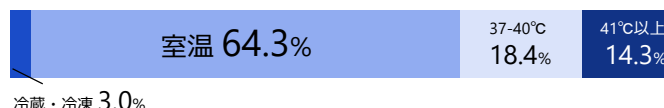
・ IHC（対象施設：120施設）



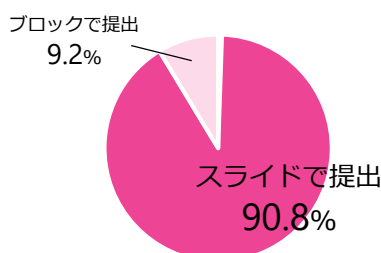
（保管日数）

75.8%の施設が3日以内に提出

（保管温度）



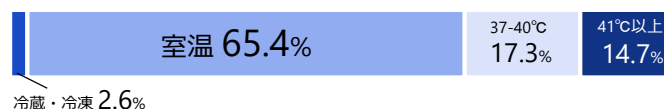
・ FISH（対象施設183施設）



（保管日数）

77.0%の施設が3日以内に提出

（保管温度）



7) 外注委託でALK（IHC・FISH）検査を行っている施設において、検体提出の際に工夫している点があれば教えてください

- ・遺伝子検査の検体は刃を交換して薄切する
- ・ケースに入れて保管する
- ・外注は毎日行っている
- など

⑨ ALK検査で参考にしているガイドライン等を教えてください（複数解答可）

「肺癌におけるALK免疫染色プラクティカルガイド」（日本病理学会）・・・109 施設
 「肺癌患者におけるALK融合遺伝子検査の手引き」（日本肺癌学会）・・・116 施設
 「ALK iAEPアトラス」（ニチレイバイオサイエンス）・・・77 施設

⑩ ALK検査を行う際、第一検査としている検査法を教えてください

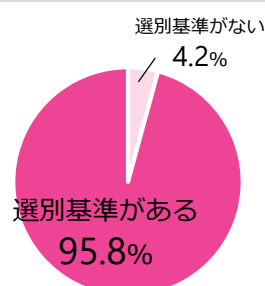
IHC検査・・・135 施設
 FISH遺伝子検査・・・16 施設
 PCR検査・・・1 施設
 IHCとFISH検査を同時に施行・・・25 施設
 場合により変更・・・6 施設
 無解答・・・40施設

臨床医からの依頼
により変更

⑪ ALK（IHC・FISH）検査を行うブロックの選択者を教えてください（複数解答可）

病理専門医・・・190 施設
 病理医（後期研修医）・・・22 施設
 病理担当技師・・・17 施設
 その他の医療スタッフ（臨床医）・・・1 施設

⑫ ALK（IHC・FISH）検査を行うブロックが複数ある場合、ブロックの選別基準を設定していますか



（選別基準）

分化度 10.7%	浸潤度 13.9%	腫瘍量 48.7%	脱灰の有無 26.7%
--------------	--------------	-----------	-------------

総合的に判断している・・・121 施設

アンケート2 TTF-1 (IHC) 染色について

A 染色

A-1) IHC染色を行っている場所を教えてください

自施設 98.6%

委託 0.9%

A-2) IHC染色内容について教えてください

Roche (8G7G3/1) : 49施設

賦活法 : 自動 (48施設) , 圧力鍋 (1施設)

賦活温度 : 95℃ (23施設) , 100℃ (14施設) , 98℃ (6施設) , 99℃ (2施設) , 97℃・120℃ (各1施設) , 無解答 (2施設)

賦活時間 : 60min (22施設) , 64min (17施設) , 30min (3施設) , 36min (2施設) , 8min・90min・98min (各1施設) , 無解答 (2施設)

賦活液 : pH8.5 (32施設) , pH9 (4施設) , pH8 (1施設) , 無解答 (12施設)

Roche (SP141) : 31施設

賦活法 : 自動 (31施設)

賦活温度 : 95℃ (13施設) , 100℃ (10施設) , 98℃ (4施設) , 97℃ (2施設) , 99℃・無解答 (各1施設)

賦活時間 : 60min (13施設) , 64min (13施設) , 30min・32min・36min・76min・無解答 (各1施設)

賦活液 : pH8.5 (21施設) , pH7・pH7.5 (各1施設) , 無解答 (8施設)

Roche (SPT24) : 22施設

賦活法 : 自動 (22施設)

賦活温度 : 95℃ (10施設) , 100℃ (7施設) , 98℃ (1施設) , 無解答 (4施設)

賦活時間 : 60min (12施設) , 64min (4施設) , 30min (3施設) , 36min・68min・無解答 (各1施設)

賦活液 : pH8.5 (15施設) , pH9 (1施設) , 無解答 (6施設)

Leica (8G7G3/1) : 26施設

賦活法 : 自動 (26施設)

賦活温度 : 100℃ (16施設) , 99℃ (3施設) , 98℃ (2施設) , 95℃・97℃ (各1施設) , 無解答 (3施設)

賦活時間 : 20min (21施設) , 30min (2施設) , 25min (1施設) , 無解答 (2施設)

賦活液 : pH9 (21施設) , pH6 (2施設) , 無解答 (3施設)

Leica (SPT24) : 22施設

賦活法 : 自動 (22施設)

賦活温度 : 100℃ (20施設) , 99℃ (1施設) , 92℃ (1施設)

賦活時間 : 20min (14施設) , 30min (7施設) , 40min (1施設)

賦活液 : pH9 (10施設) , pH6 (10施設) , pH8 (1施設) , 無解答 (1施設)

DAKO (8G7G3/1) : 21施設

賦活法 : 自動 (11施設) , PT-LINK (6施設) , 温浴槽 (4施設)

賦活温度 : 97℃ (14施設) , 98℃ (4施設) , 94℃・95℃・96℃ (各1施設)

賦活時間 : 20min (17施設) , 30min (3施設) , 10min (1施設)

賦活液 : pH9 (19施設) , 無解答 (2施設)

DAKO (SP141・SPT24) : 各2施設

賦活法 : 自動 (1施設) , PT-LINK (1・1施設) ポット (1施設)

賦活温度 : 97℃ (1・1施設) , 98℃ (1施設) , 無解答 (1施設)

賦活時間 : 20min (1・1施設) , 40min (1施設) , 無解答 (1施設)

賦活液 : pH9 (1・1施設) , pH6 (1施設) , 無解答 (1施設)

アンケート2 TTF-1 (IHC) 染色について

ニチレイ (8G7G3/1) : 12施設

賦活法 : 温浴槽 (5施設), 自動 (3施設), HEAT PRO (2施設), PT-LINK・圧力鍋 (各1施設)
 賦活温度 : 100℃ (9施設), 95℃ (2施設), 98℃ (1施設)
 賦活時間 : 40min (7施設), 20min (3施設), 30min・45min (各1施設)
 賦活液 : pH9 (11施設), 無解答 (1施設)

ニチレイ (SPT24) : 13施設

賦活法 : 温浴槽 (6施設), 自動 (3施設), 圧力鍋・レンジ・ポット・バイオケア (各1施設)
 賦活温度 : 100℃ (7施設), 98℃ (4施設), 97℃・121℃ (各1施設)
 賦活時間 : 40min (10施設), 15min・20min・90min (各1施設)
 賦活液 : pH9 (13施設)

用手 (8G7G3/1) : 6施設

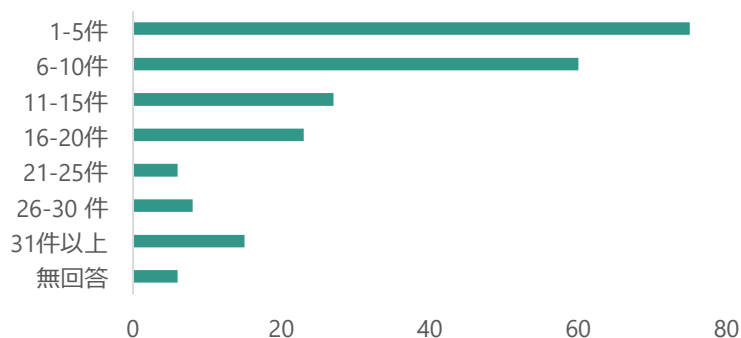
賦活法 : 温浴槽・オートクレーブ (各2施設), 圧力鍋 (1施設), 無解答 (1施設)
 賦活温度 : 121℃ (2施設), 95℃・98℃・100℃・125℃ (各1施設)
 賦活時間 : 15min (2施設), 0.5min・10min・40min・45min (各1施設)
 賦活液 : pH6 (2施設), pH9 (1施設), 無解答 (3施設)

用手 (SPT24) : 9施設

賦活法 : 温浴槽 (5施設), 圧力鍋・レンジ (各2施設)
 賦活温度 : 95℃・98℃・120℃ (各2施設), 90℃・97℃・100℃ (各1施設)
 賦活時間 : 10min (3施設), 40min (2施設), 15min・16min・30min・45min (各1施設)
 賦活液 : pH9 (6施設), pH6 (2施設), 無解答 (1施設)

1か月の実施件数について教えてください

(自施設 : 219施設)



外注委託先実施施設 (2施設) は
 1-5件が1施設, 6-10件が1施設
 であった

A-3) コントロール検体の有無について教えてください

(陽性コントロールの有無)

なし 92施設

あり 128施設 ← 自家製は121施設

無解答 2施設

陰性コントロールありの施設は40施設あり、そのうち陰性コントロールのみを使用している施設は8施設であった

A-4) コントロール検体について工夫されている点があれば教えてください

- ・ 内部コントロールを使用
- ・ 同じスライドにのせる
- ・ 肺以外の臓器を複数のせる
- ・ TMAコントロールを使用
- ・ コントロール切片を冷蔵保存、ブロックも定期的に交換
- など

アンケート2 TTF-1 (IHC) 染色について

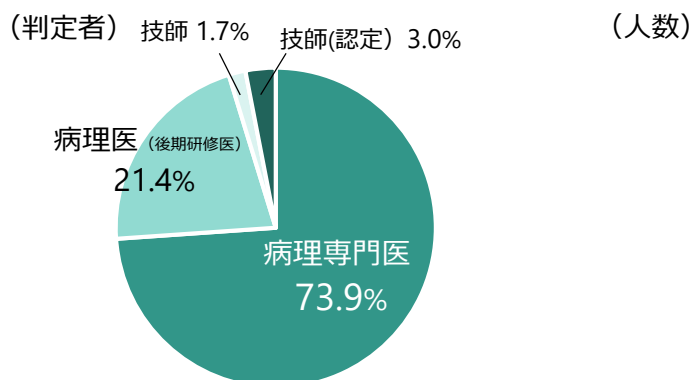
A-5) TTF-1染色について工夫されている点があれば教えてください

- ・試薬ロットが替わる度に検討を行う
- ・添付書よりも濃いめに染める
- ・希釈してから時間が経過した抗体は使用しない
- ・クローンの使い分け
- ・Optiviewを使用
- ・カクテル抗体 (TTF-1/NapsinA) の使用
- ・希釈抗体は非特異的反応が起きやすいため使用しない
- ・新規希釈時にpositive controlをたてる

など

B TTF-1診断

B-1) TTF-1染色の判定者について教えてください (複数解答可)



B-2) TTF-1染色の判定結果について教えてください (複数解答可)

陽性, 陰性 58施設
 陽性, 一部陽性, 陰性 144施設
 % 12施設
 判定不能 19施設

B-3) 再染色を行うことはありますか

ない 84施設
 ある 129施設
 無解答 9施設

(理由)



B-4) 判定に迷うことはありますか

ない 122施設
 ある 85施設
 無解答 15施設

陽性に迷う (67%)
 陰性に迷う (30.7%)
 %に迷う (2.3%)

陽性細胞が少ない
 染色が薄い など

B-5) 判定に迷った場合、どのように診断を行っていますか

- ・複数の専門医で判定を行う
- ・再染色を行う
- ・ほかの染色と総合的に判断
- ・判定に用いない

アンケート2 TTF-1（IHC）染色について

B-7) TTF-1染色に影響を与えているのではないかと印象をお持ちの条件はありますか（複数解答可）

固定時間 27.0%	固定までの時間 27.0%	ホルマリン濃度・質 17.0%	包埋から判定までの時間 17.0%	染色方法 12.0%
------------	---------------	--------------------	----------------------	---------------

（その他）クローンの違い，壊死，脱灰による影響，抗体の保存法 など

B-8) TTF-1染色に関するお考えがありましたら、教えてください

- ・ SP141や SPT24の高感度クローンは肺以外でも陽性となるため、TTF-1単独評価をしない
- ・ クローンによる違い（特性によって使いわけ）
- ・ 解剖ブロックが染まらなかったことから、長時間の固定はよくないと思う など

アンケート3 p40 (IHC) 染色について

A 染色

A-1) IHC染色を行っている場所を教えてください

自施設 98.6%

委託 0.9%

A-2) IHC染色内容について教えてください

Roche (BC28) : 53施設

賦活法 : 自動 (53施設)

賦活温度 : 95℃ (21施設) , 100℃ (18施設) , 98℃ (5施設) , 99℃ (4施設) , 97℃ (1施設) , 無解答 (4施設)

賦活時間 : 60min (25施設) , 64min (12施設) , 32min (9施設) , 30min (2施設) , 20min・36min・68min (各1施設) , 無解答 (2施設)

賦活液 : pH8.5 (40施設) , pH9 (2施設) , pH6 (1施設) , 無解答 (10施設)

Roche (ポリクローナル抗体) : 45施設

賦活法 : 自動 (44施設) , 圧力鍋 (1施設)

賦活温度 : 95℃ (24施設) , 100℃ (12施設) , 98℃ (5施設) , 97℃ (2施設) , 120℃・無解答 (各1施設)

賦活時間 : 60min (20施設) , 64min (16施設) , 30min (3施設) , 36min (2施設) , 8min・32min・90min・98min (各1施設)

賦活液 : pH8.5 (29施設) , pH9 (2施設) , pH7.5・pH8 (各1施設) , 無解答 (12施設)

Leica (BC28) : 28施設

賦活法 : 自動 (28施設)

賦活温度 : 100℃ (20施設) , 99℃ (3施設) , 95℃ (1施設) , 無解答 (4施設)

賦活時間 : 20min (24施設) , 30min (1施設) , 無解答 (3施設)

賦活液 : pH9 (21施設) , pH6 (5施設) , pH8・無解答 (各1施設)

Leica (ポリクローナル抗体) : 17施設

賦活法 : 自動 (17施設)

賦活温度 : 100℃ (11施設) , 98℃ (2施設) , 92℃・97℃・99℃・無解答 (各1施設)

賦活時間 : 20min (11施設) , 30min (4施設) , 25min・無解答 (各1施設)

賦活液 : pH9 (12施設) , pH6 (2施設) , 無解答 (3施設)

DAKO (BC28) : 12施設

賦活法 : 自動 (5施設) , PT-LINK (4施設) , 温浴槽 (2施設) , ポット (1施設)

賦活温度 : 97℃ (8施設) , 98℃ (2施設) , 96℃・無解答 (各1施設)

賦活時間 : 20min (7施設) , 30min (2施設) , 40min・10min・無解答 (各1施設)

賦活液 : pH9 (9施設) , pH6 (1施設) , 無解答 (2施設)

DAKO (ポリクローナル抗体) : 9施設

賦活法 : 自動 (5施設) , PT-LINK (3施設) , 温浴槽 (1施設)

賦活温度 : 97℃ (8施設) , 94℃ (1施設)

賦活時間 : 20min (8施設) , 30min (1施設)

賦活液 : pH9 (9施設)

ニチレイ (BC28) : 10施設

賦活法 : 温浴槽 (6施設) , 自動・HEAT PRO・PT-LINK・圧力鍋 (各1施設)

賦活温度 : 100℃ (5施設) , 98℃ (2施設) , 95℃・97℃・121℃ (1施設)

賦活時間 : 40min (6施設) , 20min (2施設) , 15min・45min (各1施設)

賦活液 : pH9 (9施設) , pH8.5 (1施設)

アンケート3 p40 (IHC) 染色について

ニチレイ (ポリクローナル抗体) : 13施設

賦活法 : 温浴槽 (5施設), 自動 (3施設), HEAT PRO (2施設), バイオケア・ポット・圧力鍋 (各1施設)
 賦活温度 : 100℃ (8施設), 98℃ (4施設), 95℃ (1施設)
 賦活時間 : 40min (10施設), 20min (2施設), 30min (1施設)
 賦活液 : pH9 (13施設)

用手 (BC28) : 10施設

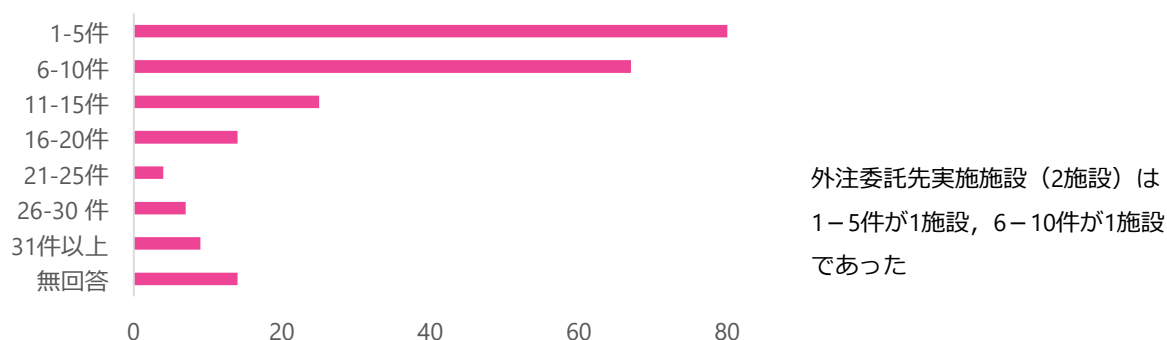
賦活法 : 温浴槽 (6施設), 圧力鍋 (3施設), レンジ (1施設)
 賦活温度 : 98℃ (4施設), 95℃ (2施設), 97℃・100℃・120℃・125℃ (各1施設)
 賦活時間 : 40min (3施設), 10min・15min (各2施設), 0.5min・30min・45min (各1施設)
 賦活液 : pH9 (5施設), pH6 (2施設), pH8 (1施設), 無解答 (2施設)

用手 (ポリクローナル抗体) : 1施設

賦活法 : オートクレーブ
 賦活温度 : 121℃
 賦活時間 : 15min
 賦活液 : pH6

1か月の実施件数について教えてください

(自施設 : 217施設)



A-3) コントロール検体の有無について教えてください

(陽性コントロールの有無)

なし 95施設
 あり 120施設 ← 自家製は113施設
 無解答 5施設

陰性コントロールありの施設は39施設あり、そのうち陰性コントロールのみを使用している施設は7施設であった

A-4) コントロール検体について工夫されている点があれば教えてください

- ・内部コントロールを使用
- ・同じスライドにのせる
- ・検体ごとにコントロールをかえる
- ・TMAコントロールを使用
- ・腫瘍細胞と正常細胞が含まれている検体を使用
- ・コントロール切片を冷蔵保存、ブロックも定期的に交換
- など

A-5) p40染色について工夫されている点があれば教えてください

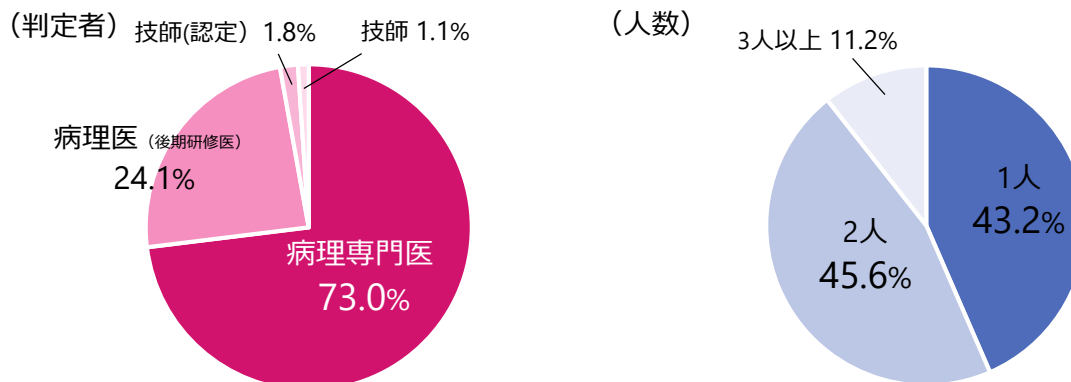
- ・試薬ロットが替わる度に検討を行う
- ・カクテル抗体 (p40/CK14) の使用

アンケート3 p40（IHC）染色について

- ・希釈抗体は非特異的反応が起きやすいため使用しない
- ・新規希釈時にpositive controlをたてる
- ・希釈後時間が経過したものは使用しない

B p40診断

B-1) p40染色の判定者について教えてください（複数解答可）



B-2) p40染色の判定結果について教えてください（複数解答可）

陽性, 陰性 64施設
 陽性, 一部陽性, 陰性 139施設
 % 11施設
 判定不能 16施設

B-3) 再染色を行うことはありますか

ない 85施設
 ある 116施設
 無解答 19施設

(理由)



B-4) 判定に迷うことはありますか

ない 121施設
 ある 81施設
 無解答 18施設

陽性に迷う (68.2%)
 陰性に迷う (29.5%)
 %に迷う (2.3%)

陽性細胞が少ない
 染色が薄い
 細胞質が染まる など

B-5) 判定に迷った場合、どのように診断を行っていますか

- ・複数の専門医で判定を行う
- ・再染色を行う
- ・ほかの染色と総合的に判断
- ・判定に用いない

B-7) p40染色に影響を与えているのではないかと印象をお持ちの条件はありますか（複数解答可）



アンケート3 p40（IHC）染色について

B-8) p40染色に関するお考えがありましたら、教えてください

- ・ P40のポリクローナル抗体に有用性はあるのか
- ・ モノクローナル抗体にした方が肺癌の組織判定に役立つ可能性はあるのか
- ・ ニチレイのポリクローナル抗体ですが、一部に共染がみられ組織球にも弱く染色されるため、
モノクローナル抗体に変更予定 など

アンケート4 ALK (IHC) 染色について

A 染色

A-1) IHC染色を行っている場所を教えてください

自施設 56.7%

委託 41.6%

A-2) IHC染色内容について教えてください（自施設で行っている施設を対象：101施設）

5A4（ニチレイ）

抗体希釈倍率：ready to use（40施設），2倍（2施設），5倍・50倍（各1施設）

反応時間：30min（38施設），15min・60min（各2施設），90min・無解答（各1施設）

ニチレイ：20施設

賦活法：自動（20施設）

賦活温度：100℃（11施設），98℃（5施設），97℃（2施設），99℃（1施設），無解答（1施設）

賦活時間：40min（16施設），20min・30min・70min・無解答（各1施設）

賦活液：pH9（13施設），無解答（7施設）

ニチレイ用手：17施設

賦活法：温浴槽（8施設），オートクレーブ（3施設），ポット・レンジ（各2施設），圧力鍋・PT-LINK（各1施設）

賦活温度：98℃（8施設），95℃（5施設），110℃（2施設），100℃・121℃（各1施設）

賦活時間：40min（11施設），50min・60min（各2施設），10min・20min（各1施設）

賦活液：pH9（10施設），pH8（1施設），無解答（6施設）

Leica：6施設

賦活法：自動（6施設）

賦活温度：100℃（4施設），99℃（2施設）

賦活時間：20min（3施設），30min（2施設），40min（1施設）

賦活液：pH9（4施設），pH6・無解答（各1施設）

他 ROCHE：1施設

5A4（Leica）

抗体希釈倍率：50倍（9施設），40倍（1施設），無解答（4施設）

反応時間：30min（7施設），15min（2施設），10min・20min（各1施設），無解答（3施設）

Leica：14施設

賦活法：自動（14施設）

賦活温度：100℃（9施設），95℃，97℃，98℃，99℃・無解答（各1施設）

賦活時間：30min（7施設），20min（5施設），25min・無解答（各1施設）

賦活液：pH9（8施設），pH6（1施設），無解答（5施設）

5A4（abcam）

抗体希釈倍率：50倍（6施設），2倍・25倍・30倍・無解答（各1施設）

反応時間：30min（5施設），20min（2施設），15min・60min・無解答（各1施設）

DAKO（5施設），Leica（3施設），ROCHE（1施設），Agilent（1施設）

賦活法：自動（10施設）

賦活温度：97℃（5施設），100℃（2施設），98℃（1施設），100℃・無解答（各1施設）

賦活時間：30min（4施設），20min（4施設），40min・無解答（各1施設）

賦活液：pH9（8施設），無解答（2施設）

5A4はThermo（1施設），NOVO（5施設）を使用している施設もあった

アンケート4 ALK (IHC) 染色について

D5F3 (ROCHE) 反応時間：16min（13施設），12min（1施設），無解答（4施設）

ROCHE：18施設

賦活法：自動（18施設）

賦活温度：100℃（11施設），95℃（3施設），92℃・95℃（各1施設），無解答（2施設）

賦活時間：92min（12施設），48min・60min・64min・90min（各1施設），無解答（2施設）

賦活液：pH8.5（17施設），無解答（1施設）

D5F3 (CST)

抗体希釈倍率：100倍・200倍・250倍・500倍・無解答（各1施設）

反応時間：8min・15min・30min・40min・無解答（各1施設）

Leica（3施設），ROCHE（2施設）

賦活法：自動（5施設）

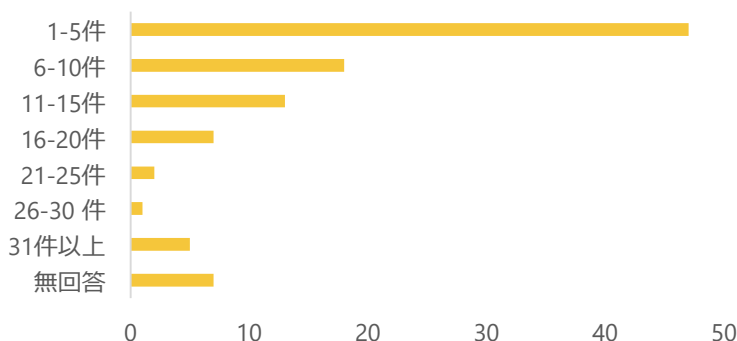
賦活温度：100℃（3施設），95℃（2施設）

賦活時間：30min（2施設），20min・60min・64min（各1施設）

賦活液：pH9（3施設），pH8.5（2施設）

1か月の実施件数について教えてください

（自施設：101施設）



外注委託先実施施設（74施設）は
1－5件が27施設、6－10件が7施設、
11－15件が3施設、16－20件2施設、
31件以上が1施設、無解答は34施設であった

A-3) コントロール検体の有無について教えてください

（陽性コントロールの有無）

なし・・・・・・・・・・ 14施設

あり・・・・・・・・・・ 93施設 ← 自家製は75施設

無解答・・・・・・・・ 71施設

陰性コントロールありの施設は22施設あり、そのうち両方を使用している施設は21施設であった

A-4) コントロール検体について工夫されている点があれば教えてください

- ・ FISH陽性症例を陽性コントロールにしている
- ・ 抗体反応時間を長めに設定している
- ・ 腸管の神経叢をコントロールとしている
- ・ 薄切後2週間以内に使用している
- ・ コントロール切片を冷蔵保存、ブロックも定期的に交換

など

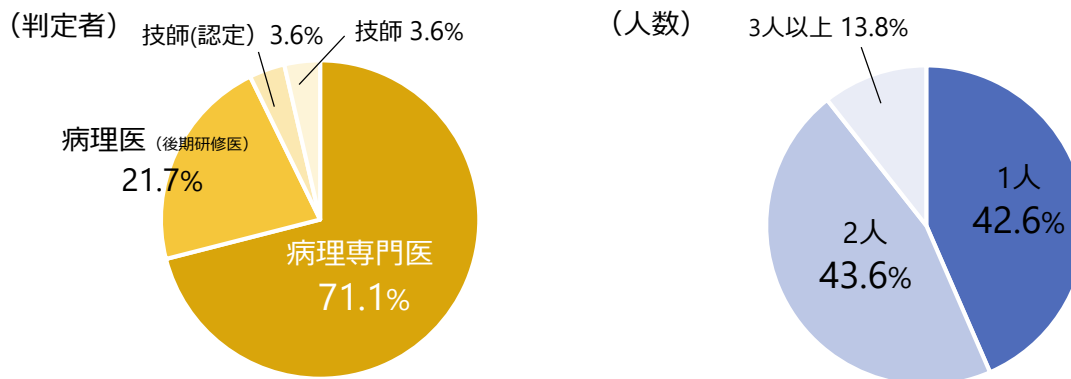
A-5) p40染色について工夫されている点があれば教えてください

- ・ 自施設で陽性が出てから、外注に出している
- ・ 賦活時、標本が乾かないように、バッファーへ完全に浸るようにしている

アンケート4 ALK（IHC）染色について

B ALK診断

B-1) ALK染色の判定者について教えてください（複数解答可）



B-2) ALK染色の判定結果について教えてください（複数解答可）

陽性, 陰性 58施設
 3 (陽性) , 2 (境界域) , 1 (境界域) , 0 (陰性) . . . 64施設
 その他 4施設

B-3) 再染色を行うことはありますか

ない 52施設
 ある 64施設
 無解答 62施設

(理由)

剥がれ 23.0%	染色ムラ 17.2%	共染 18.0%	コントロール染色不良 29.5%	確認 12.3%
-----------	------------	----------	------------------	----------

B-4) 判定に迷うことはありますか

ない 37施設
 ある 59施設
 無解答 82施設

B-5) 判定に迷った場合、どのように診断を行っていますか（複数解答可）

- ・複数の専門医で判定を行う 47施設
- ・再染色 25施設
- ・FISH施行 10施設
- ・PCR施行 2施設

B-6) ALK染色に影響を与えているのではないかと印象をお持ちの条件はありますか（複数解答可）

固定時間 27.3%	固定までの時間 28.7%	ホルマリン濃度・質 14.0%	包埋から判定までの時間 16.7%	染色方法 13.3%
------------	---------------	-----------------	-------------------	------------

B-7) ALK染色に関するお考えがありましたら、教えてください

- ・外注のため報告書のスキャナー取り込みによる事務処理と臨床側の確認がやや煩雑になる
- ・薬剤、使用抗体によるコンパニオン診断薬の制限をなくしてほしい

2017 年度後期フォトサーベイ(肺癌)

A) 問題用紙

問 1 フォルダ名 : LC 1

解答選択肢 (番号で解答してください)

- ①腺癌
- ②扁平上皮癌
- ③大細胞癌
- ④clear cell tumor
- ⑤転移性肺腫瘍 (※)
- ⑥その他の腫瘍 (※)

※⑤を選んだ方は原発部位あるいは腫瘍の推定組織型、⑥を選んだ方は腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

()

問 2 フォルダ名 : LC2

1. 解答選択肢 (番号で解答してください)

- ①非小細胞癌 (腺癌示唆)
- ②非小細胞癌 (扁平上皮癌示唆)
- ③非小細胞癌 (NOS)
- ④非小細胞癌 (腺扁平上皮癌示唆)
- ⑤転移性肺腫瘍 (※)
- ⑥その他の腫瘍 (※)

※⑤を選んだ方は原発部位あるいは腫瘍の推定組織型、⑥を選んだ方は腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

()

2. ALK 免疫染色について (陰性、陽性) で判定してください。

問 3 フォルダ名 : LC3

解答選択肢（番号で解答してください）

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④小細胞癌
- ⑤カルチノイド腫瘍
- ⑥その他の腫瘍（※）

※⑥を選んだ方は腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

()

問 4 フォルダ名 : LC4

解答選択肢（番号で解答してください）

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）
- ⑤転移性肺腫瘍（※）
- ⑥その他の腫瘍（※）

※⑤を選んだ方は原発部位あるいは腫瘍の推定組織型、⑥を選んだ方は腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

()

問 5 フォルダ名 : LC5

解答選択肢（番号で解答してください）

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）
- ⑤小細胞癌
- ⑥その他の腫瘍（※）

※⑥を選んだ方は原発腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

$$\left(\begin{array}{c} \text{ } \\ \text{ } \\ \text{ } \end{array} \right)$$

問 6 フォルダ名 : LC6

1. 解答選択肢（番号で解答してください）

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）
- ⑤その他の腫瘍（※）

※⑤を選んだ方は原発腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

()

2. ALK免疫染色について（陰性、陽性）で判定してください。

問 7 フォルダ名 : LC7

1. 解答選択肢 (番号で解答してください)

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④転移性肺腫瘍（※）
- ⑤その他の腫瘍（※）

※④を選んだ方は原発部位あるいは腫瘍の推定組織型、⑤を選んだ方は原発腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

()

2. ALK免疫染色について（陰性、陽性）で判定してください。

3. PD-L1 免疫染色について（陰性、低発現、高発現）で判定してください。

また、陽性細胞があれば（ ）%ですか。

問 8 フォルダ名 : LC8

解答選択肢（番号で解答してください）

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）
- ⑤その他の腫瘍（※）

※⑤を選んだ方は原発腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

$$\left(\begin{array}{c} \text{ } \end{array} \right)$$

問 9 フォルダ名 : LC9

1. 解答選択肢（番号で解答してください）

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）
- ⑤その他の腫瘍（※）

※⑤を選んだ方は原発腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

（ ）

2. PD-L1 免疫染色について（陰性、低発現、高発現）で判定してください。

また、陽性細胞があれば（ ）%ですか。

問 10 フォルダ名 : LC10

解答選択肢（番号で解答してください）

- ①非小細胞癌（腺癌示唆）
- ②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）
- ③非小細胞癌（NOS）
- ④転移性肺腫瘍（※）
- ⑤その他の腫瘍（※）

※④を選んだ方は原発部位あるいは腫瘍の推定組織型、⑤を選んだ方は原発腫瘍の推定組織型を解答用紙に記載してください。

（ ）

問1

	施設数	
①腺癌	0	
②扁平上皮癌	0	
③大細胞癌	0	⑤の内訳
④clear cell tumor	4	腎癌（淡明細胞型腎細胞癌）(215), 卵巣癌(1), 無解答(2)
⑤転移性肺腫瘍	218	
⑥その他の腫瘍	1	腎癌(1)

問2-1

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	137	
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	5	
③非小細胞癌（NOS）	23	
④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）	56	
⑤転移性肺腫瘍	0	⑥の内訳
⑥その他の腫瘍	2	小細胞癌(1), LCNEC(1)

問2-2

	施設数
陰性	221
陽性	0
無解答	2

問3

	施設数
①非小細胞癌（腺癌示唆）	0
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	0
③非小細胞癌（NOS）	1
④小細胞癌	222
⑤カルチノイド腫瘍	0
⑥その他の腫瘍	0

問4

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	0	
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	0	
③非小細胞癌（NOS）	0	
④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）	1	⑤の内訳
⑤転移性肺腫瘍	222	乳癌(219), 無解答(3)
⑥その他の腫瘍	0	

問5

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	1	
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	207	
③非小細胞癌（NOS）	1	
④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）	2	
⑤小細胞癌	4	⑥の内訳
⑥その他の腫瘍	7	腺様嚢胞癌（4）、類基底細胞癌（3）
無解答	1	

問6-1

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	1	
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	1	
③非小細胞癌（NOS）	196	
④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）	1	⑤の内訳
⑤その他の腫瘍	23	大細胞癌(13)、原発不明(2)、悪性リンパ腫(2)、血管肉腫(1)、悪性中皮腫(1)、多形癌(1)、無解答(3)
無解答	1	

問6-2

	施設数
陰性	215
陽性	7
無解答	1

問7-1

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	212	
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	1	
③非小細胞癌（NOS）	7	
④転移性肺腫瘍	0	⑤の内訳
⑤その他の腫瘍	2	ALK陽性肺癌(1)、小細胞癌または腺癌(1)
無解答	1	

問7-2

	施設数
陰性	3
陽性	219
無解答	1

問7-3

	施設数
陰性	1
高発現	215
低発現	3
無解答	4

高発現	215	100%	35	
		91-99%	19	
		81-90%	79	
		71-80%	40	
		61-70%	16	
		50-60%	17	
		41-49%	0	
		30-40%	6	無解答 3
低発現	3	30%	1	
		20%	1	
		10%	1	

問8

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	1	
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	209	
③非小細胞癌（NOS）	1	⑤の内訳
④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）	2	粘表皮癌(5), 脂腺癌(2), PEComa(1), 腎癌(1), 無解答(1)
⑤その他の腫瘍	10	

問9-1

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	0	
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	218	
③非小細胞癌（NOS）	1	
④非小細胞癌（腺扁平上皮癌示唆）	1	⑤の内訳
⑤その他の腫瘍	3	扁平上皮癌(2), 粘表皮癌(1)

問9-2

	施設数
陰性	5
高発現	11
低発現	206
無解答	1

高発現	11	70%	2	
		60%	5	
		50%	3	
		30%	1	
低発現	206	50%	1	
		41-49%	9	
		31-40%	22	
		21-30%	54	
		11-20%	50	
		6-10%	42	
		1-5%	24	無解答 4

問10

	施設数	
①非小細胞癌（腺癌示唆）	5	④の内訳
②非小細胞癌（扁平上皮癌示唆）	11	尿路上皮癌・膀胱癌・腺様嚢胞癌(各3), 粘表皮癌(2), 腺扁平上皮癌・上皮筋上皮癌・胸腺癌・腎細胞癌・乳癌・唾液腺癌or粘表皮癌(各1), 無解答(3)
③非小細胞癌（NOS）	12	
④転移性肺腫瘍	20	⑤の内訳
⑤その他の腫瘍	174	粘表皮癌(140), 腺様嚢胞癌(15), 唾液腺癌(10), 多形腺腫(3), 上皮筋上皮癌・腺扁平上皮癌・粘表皮癌or腺扁平上皮癌・非小細胞癌or粘表皮癌・唾液腺癌or粘表皮癌(各1), 無解答(1)
無解答	1	

アンケート1 ALK抗体の施設実施状況について

アンケート1-1 染色はどこで実施していますか。 () 施設数

	施設数	
①院内	82	
②院外	107	
③実施項目としていない	10	④の内訳
④その他	11	院内+院外 (4), 体外診断薬として院外・スクリーニングは 院内(4), FISHのみ (1), 無解答(2)
無解答	13	

アンケート1-2 免疫染色の判定はどこで実施していますか。 () 施設数

	施設数	
①院内で実施	87	
②院外で実施	101	
③実施項目としていない	9	④の内訳
④その他	10	院内+院外 (5), 体外診断薬として院外・スクリーニングは 院内(3), FISHのみ(1), 無解答(1)
無解答	16	

アンケート2 PD-L1 抗体の施設実施状況について

アンケート2-1 染色はどこで実施していますか。

	施設数	
①院内	33	
②院外	165	
③実施項目としていない	11	④の内訳
④その他	1	院内+院外 (1)
無解答	13	

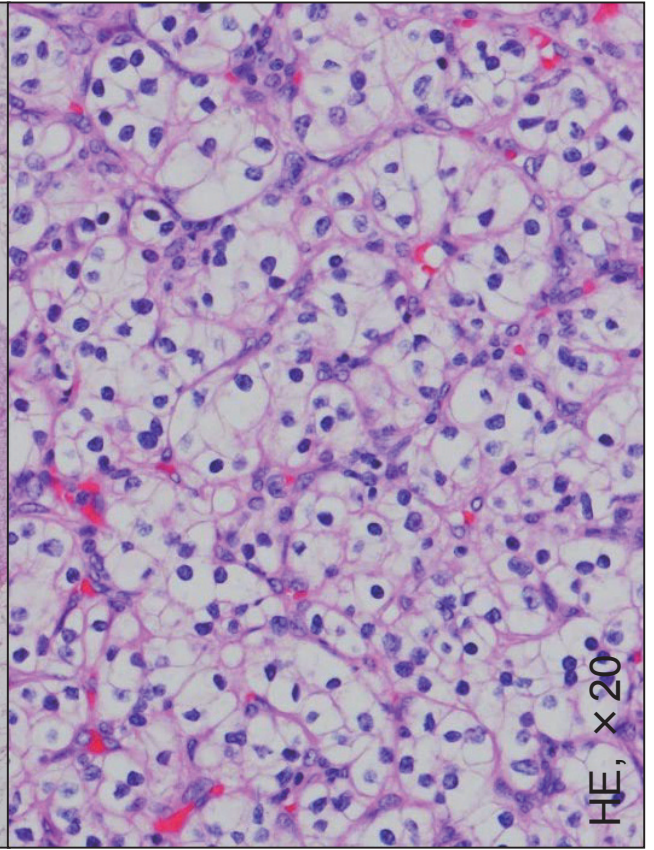
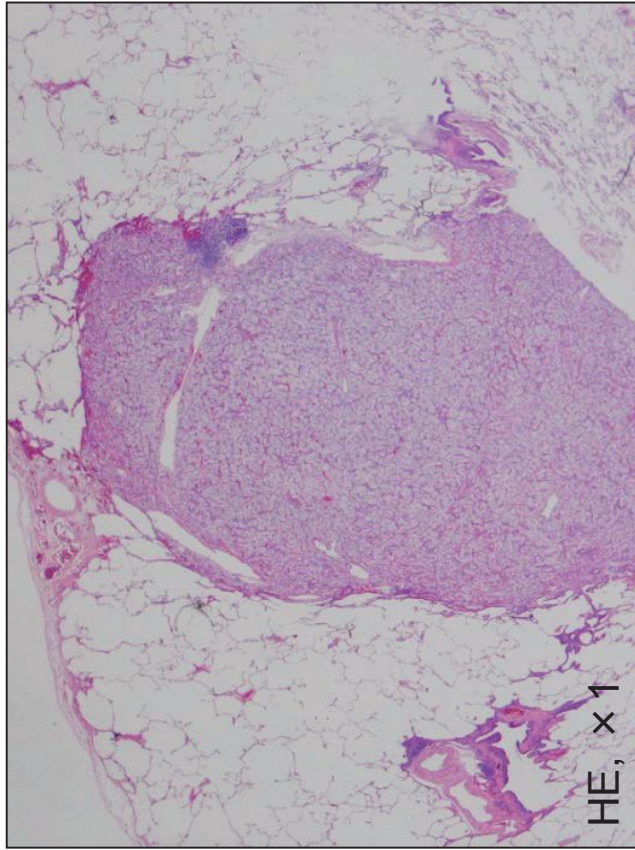
アンケート2-2 免疫染色の判定はどこで実施していますか。

	施設数	
①院内	40	
②院外	155	
③実施項目としていない	12	④の内訳
④その他	2	院内+院外 (1), 無解答(1)
無解答	14	

C)後期フォトサーベイの結果と考察

今回、後期フォトサーベイで使用した標本の HE 染色と免疫染色の結果を記載した。次に肺癌診断時に使用する重要な一次抗体についてまとめを記載した。最後に ALK 免疫染色や PD-L1 免疫染色標本判定時の評価法や判定時の注意点も記載したので参考にさせていただきたい。

LC1(肺切除組織)



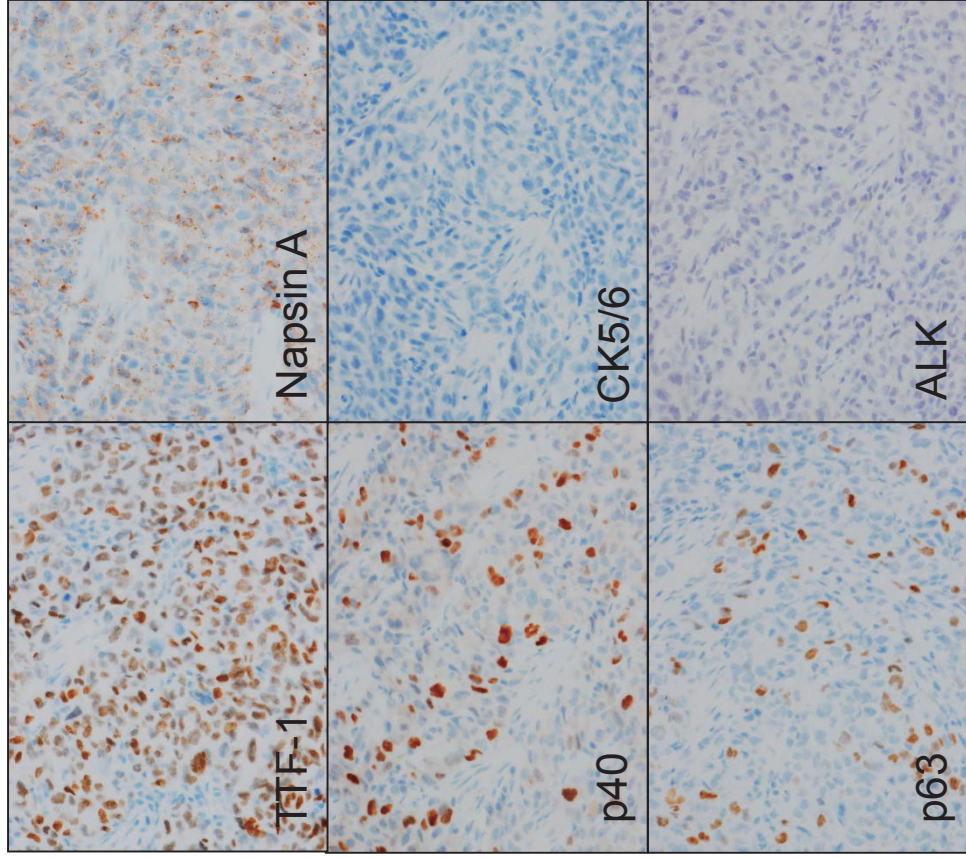
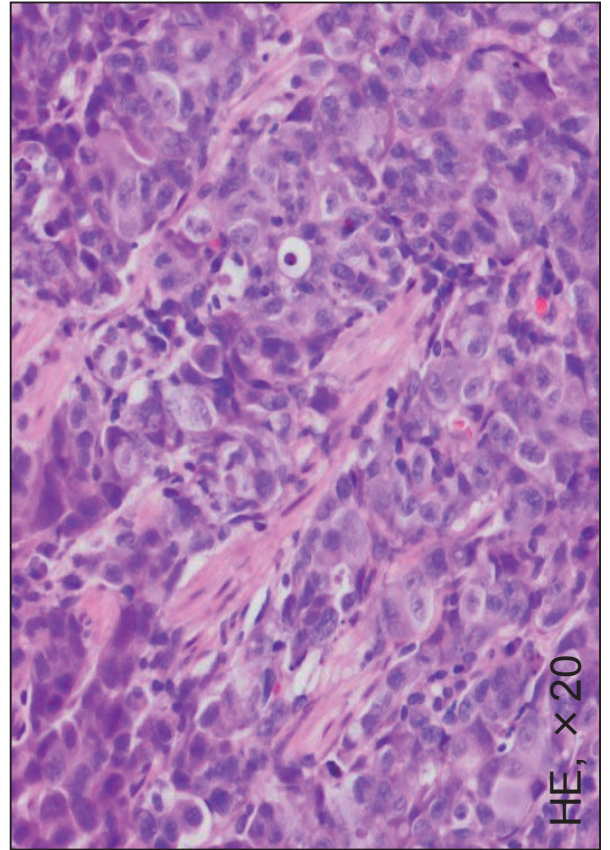
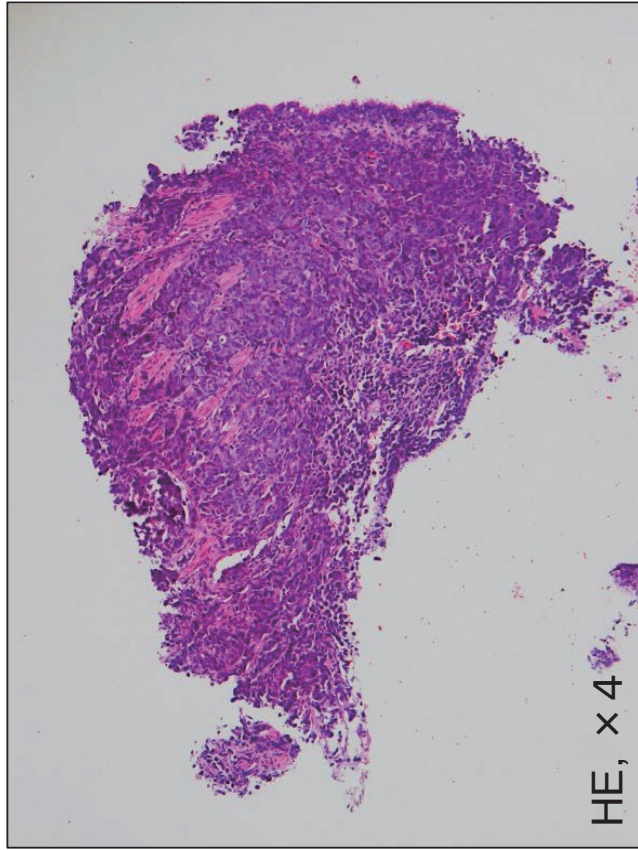
TTF-1	Napsin A
p40	CK5/6
CD10	Vimentin
PAX8	HMB-45

問題1 2017 LC1(手術組織)

解答: ⑤転移性肺腫瘍、腎癌(淡明細胞型腎細胞癌)

解説: 弱拡大像では長径約6mmの大きさを示す境界明瞭な腫瘍が認められる。組織学的には、類円形核と淡明で豊富な細胞質から腎癌(淡明細胞型腎細胞癌)の肺転移がまずは鑑別にあげられる。免疫染色ではCD10, vimentin, PAX 8が陽性, TTF-1, Napsin A, p40, CK5/6, HMB-45が陰性であることは腎癌(淡明細胞型腎細胞癌)として合致する。本例では19年前に腎細胞癌の手術歴があり、今回の組織像に類似していた。肺腫瘍では原発性肺腫瘍だけではなく、常に転移性肺腫瘍を鑑別診断にあげておかなければならない。また、主治医も以前の手術歴を申し込み用紙に記載していないこと、あるいは全く気づいていないこともあるため、診断時に少しでも疑問をもった場合は、主治医に確認することや免疫染色での追加検討が大切となる。今回の組織像は細胞異型に乏しいためあまり鑑別診断があらならないが、肺原発の腺癌(以前の淡明細胞型)はTTF-1, Napsin Aが陽性、扁平上皮癌(以前の淡明細胞型)はp40, CK5/6が陽性である。また、大細胞癌(以前の淡明細胞型)はvimentin陽性のこともあるが、CD10, PAX-8は陰性のことが多い。極めて稀な症例であるclear cell tumorは、一般的にHMB-45が陽性である。

LC2(肺生検組織)



問題2 2017 LC2(生検組織)

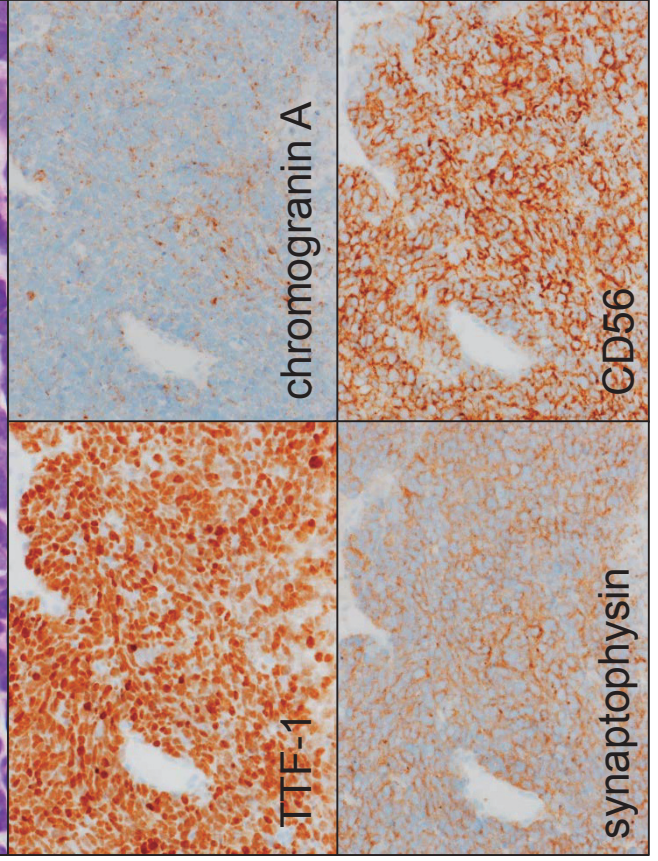
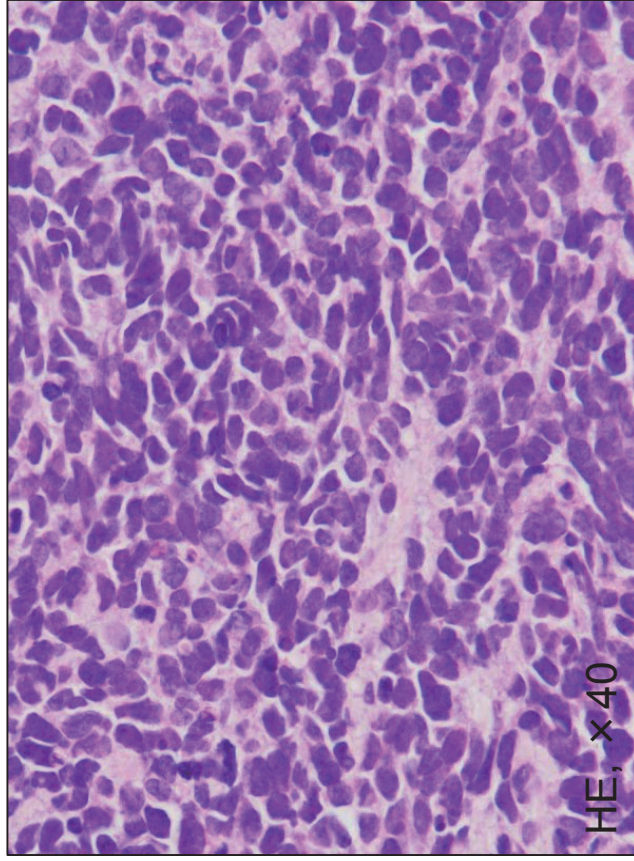
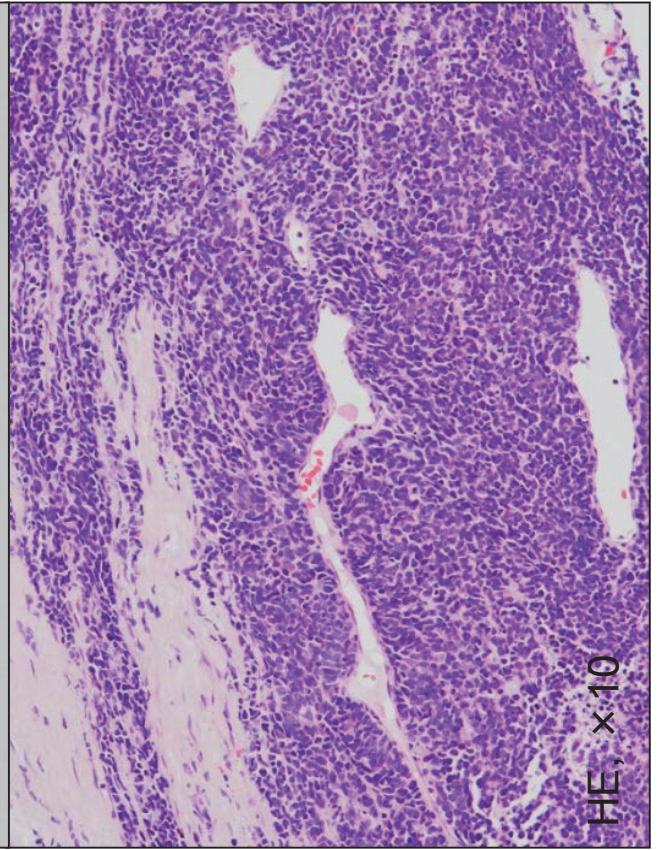
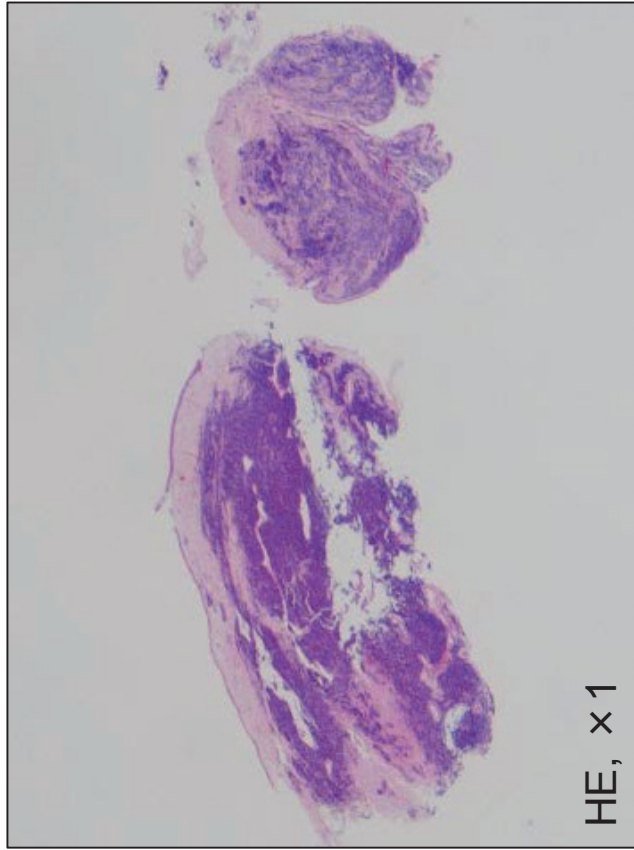
解答1: ①非小細胞癌(腺癌示唆)、解答2: ALK 陰性

解答1の解説: 円形核や明瞭な核小体、豊富な細胞質を有する腫瘍細胞が充実に増殖している。免疫染色では、TTF-1陽性、Napsin A陽性、CK5/6陰性である。また、p40が一部陽性(陽性率約20~30%), p63が一部陽性(陽性率約20~30%)である。p40とp63陽性細胞はTTF-1陽性細胞とほぼ一致しており、p40とp63がTTF-1とは別に領域性をもって陽性像が認められているわけではない。この場合は、TTF-1やNapsin Aを優位にとり、非小細胞癌(腺癌示唆)とする。

鑑別診断にあげられる非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)は、一般的にp40やCK5/6がびまん性に陽性で、TTF-1やNapsin Aが陰性である。非小細胞癌(NOS)は、定型的な腺癌マーカー(TTF-1やNapsin A)と扁平上皮癌マーカー(p40やCK5/6)が陽性でない場合である。非小細胞癌(腺癌扁平上皮癌示唆)は、腺癌のマーカーと扁平上皮癌のマーカーがそれぞれ別な癌細胞に領域性をもって陽性の場合である。また、2017年の肺癌取扱い規約第8版から、生検組織では手術組織のように全体像をみているわけではないので、上皮内腺癌、微少浸潤性腺癌、腺扁平上皮癌、肉腫様癌の組織型推定を行うことはできなくなった。それぞれ強く疑われる場合は、所見に参考所見として付記するのが望ましい。

解答2の解説: 腫瘍細胞に陽性反応がないため陰性と判定される。本例はコンパニオン診断薬であるニチレイのヒストファインALK iAEP[®]キットを使用しているため陰性(スコア0)とも判定できる。

LC3(肺生検組織)

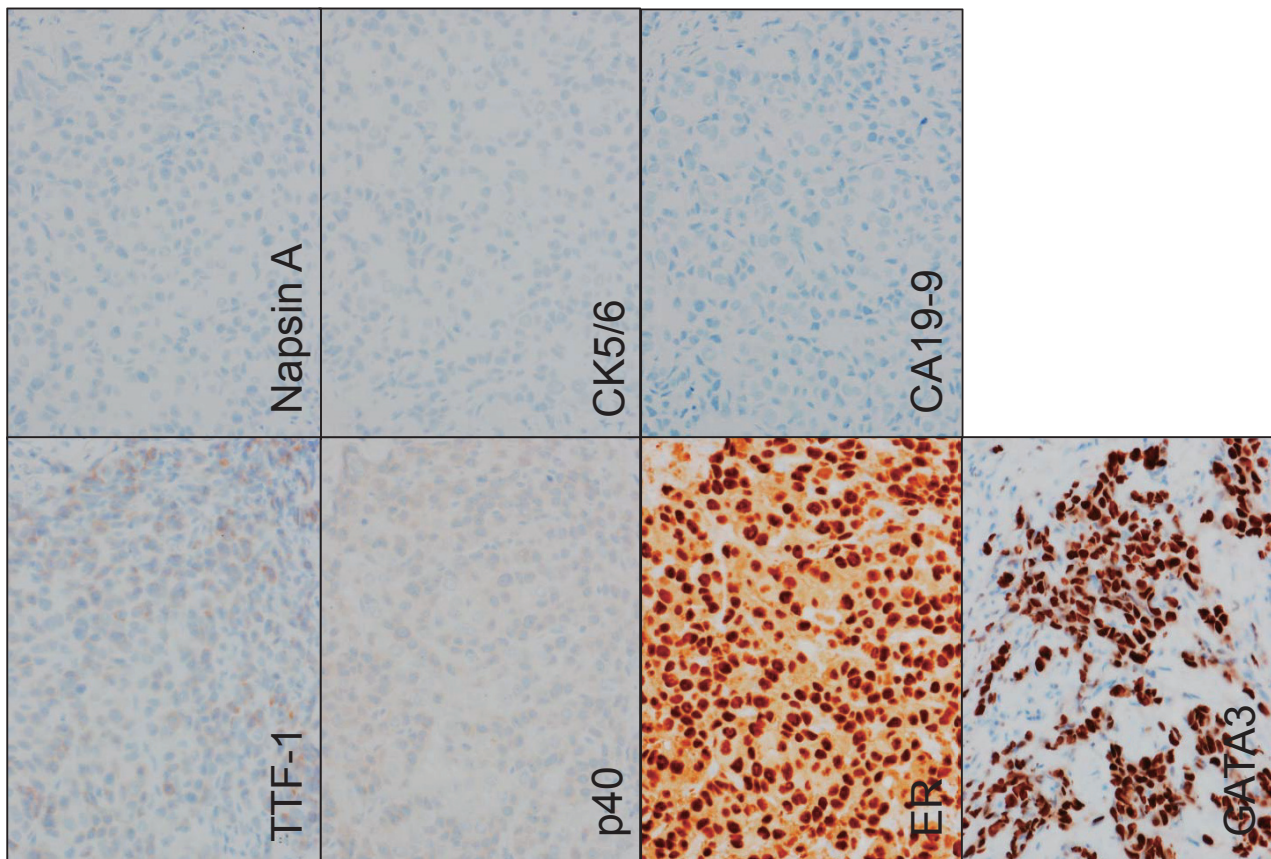
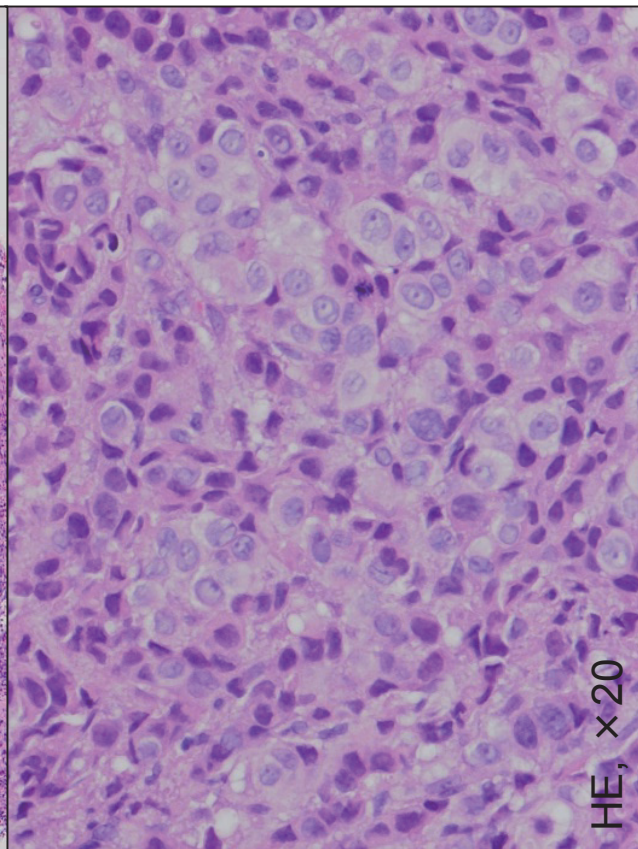
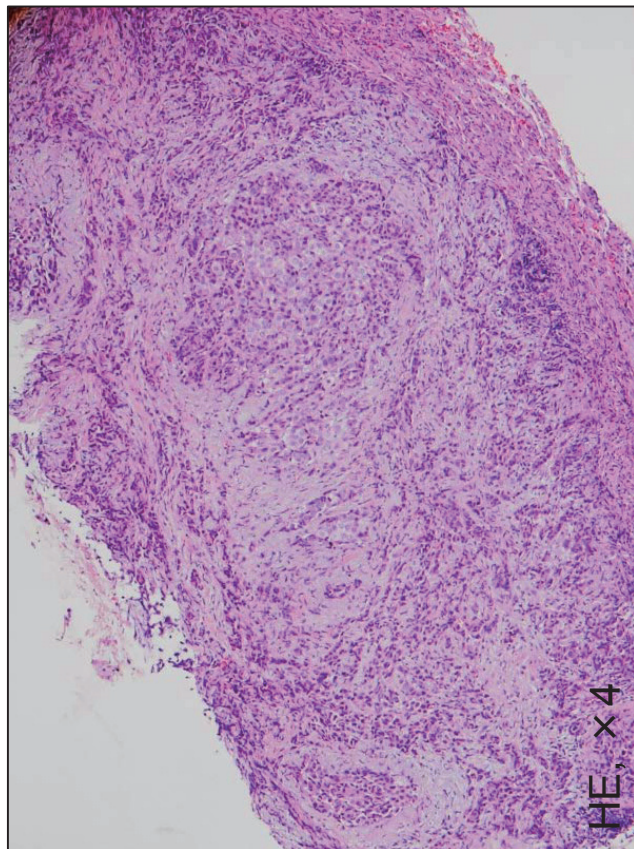


問題3 2017 LC3(生検組織)

解答: ④小細胞癌

解説: HE染色では円形、類円形、紡錘形核をもつN/C比の高い裸核状の腫瘍細胞が充実性に増殖している。一部では核線化が認められる。切片中には腺腔形成や細胞間橋、角化などの特定の分化はみられず、組織像からは小細胞癌が推定される。免疫染色ではTTF-1, chromogranin A, synaptophysin, CD56がいずれも陽性で、小細胞癌として矛盾しない結果である。鑑別診断にあげられる①,②,③はHE染色と免疫染色の結果から否定的である。また、⑤のカルチノイド腫瘍は、円形の核と弱好酸性の細胞質を有する腫瘍細胞が、類器官状、索状、柵状、リボン状、ロゼット様などの神経内分泌分化を示す像を呈するため、明らかにHE染色像が異なる。また、カルチノイド腫瘍は一般的にTTF-1が陰性である。小細胞癌の診断は生検組織のみで診断可能な場合も多く、肺癌取扱い規約(第8版)でも免疫染色は必須ではない。また、肺以外の臓器発生の小細胞癌でも同様の免疫染色の結果を示すことがあるため、他に原発巣がないか追加検索を行う必要もある。

LC4(肺生検組織)



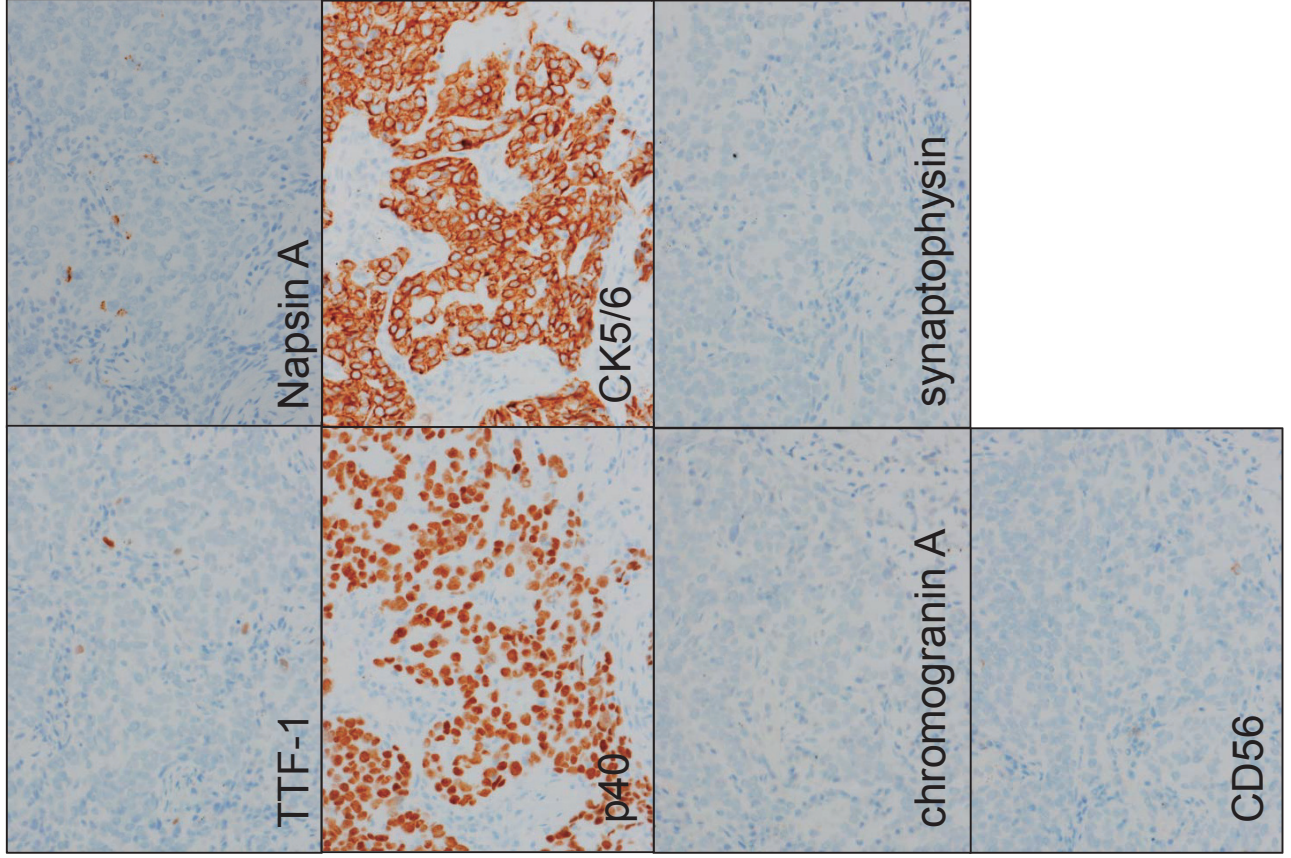
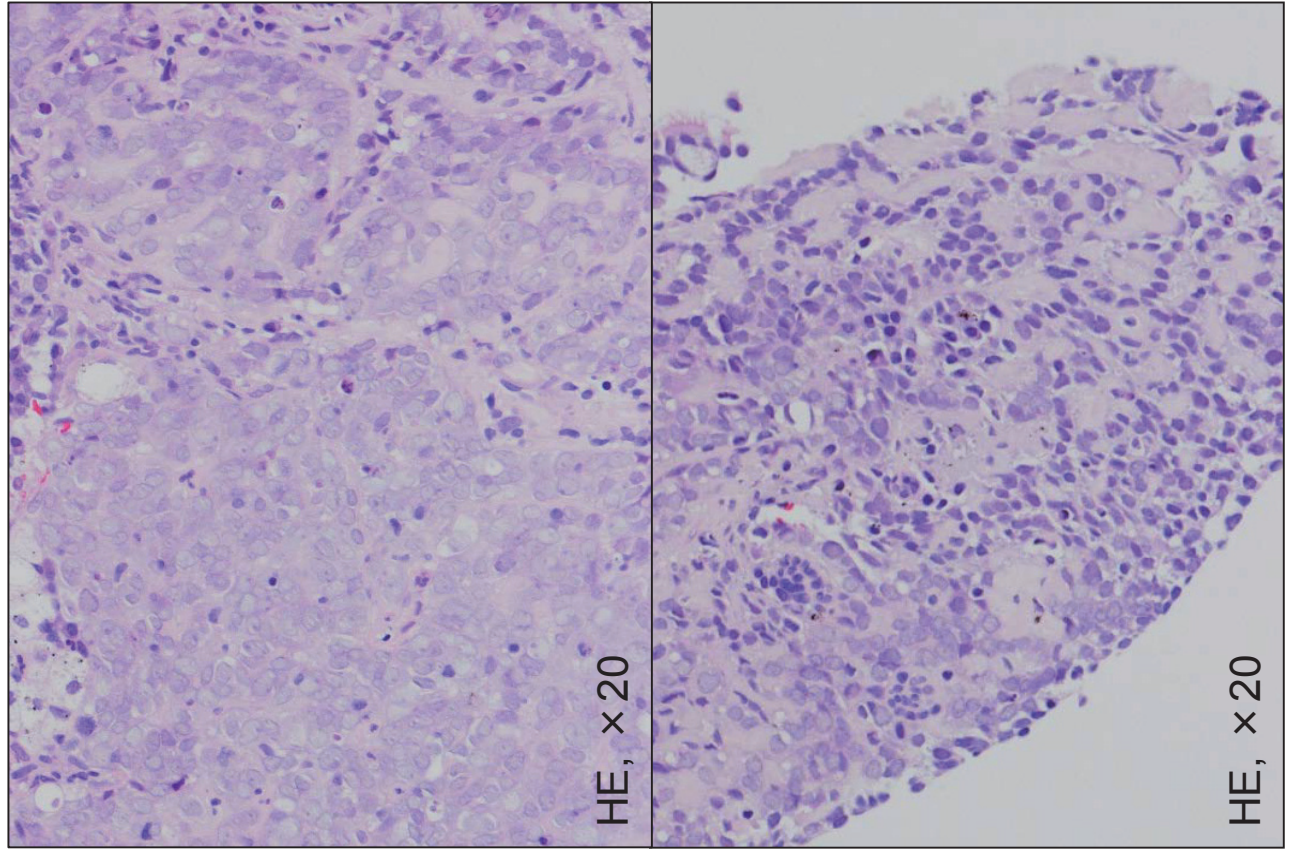
問題4 2017 LC4(生検組織)

解答: ⑤転移性肺腫瘍、乳癌

解説: HE染色では類円形の核、明瞭な核小体、豊富な細胞質を有する腫瘍細胞の充実性増殖が認められる。充実性増殖を示す全ての原発性あるいは転移性腫瘍が鑑別に挙げられる。ただし、腫瘍細胞の一部の細胞質内には、細胞内小腺腔様の像がみられることに注意する必要がある。免疫染色では、TTF-1, Napsin A, p40, CK5/6が陰性であるため、肺原発の腺癌や扁平上皮癌は考えにくい。ERとGATA3が陽性、CA19-9が陰性であることから、乳腺原発の浸潤性乳管癌の肺転移の可能性が高いと考えられる。本例では8年前に乳癌手術の既往歴があり、組織像も類似していたため、臨床像も合わせて乳癌の肺転移として矛盾しない。

GATA3: 細胞における転写活性化因子として働き、細胞の発生、分化、増殖に寄与する。正常な細胞では、腎臓の遠位尿細管、T細胞の核に陽性を示す。腫瘍では乳癌、尿路上皮癌、皮膚の基底細胞癌や扁平上皮癌、唾液腺導管癌などが陽性となる。GATA3は特に転移性乳癌や転移性尿路上皮癌の鑑別時に有用なマーカーである。

LC5(肺生検組織)



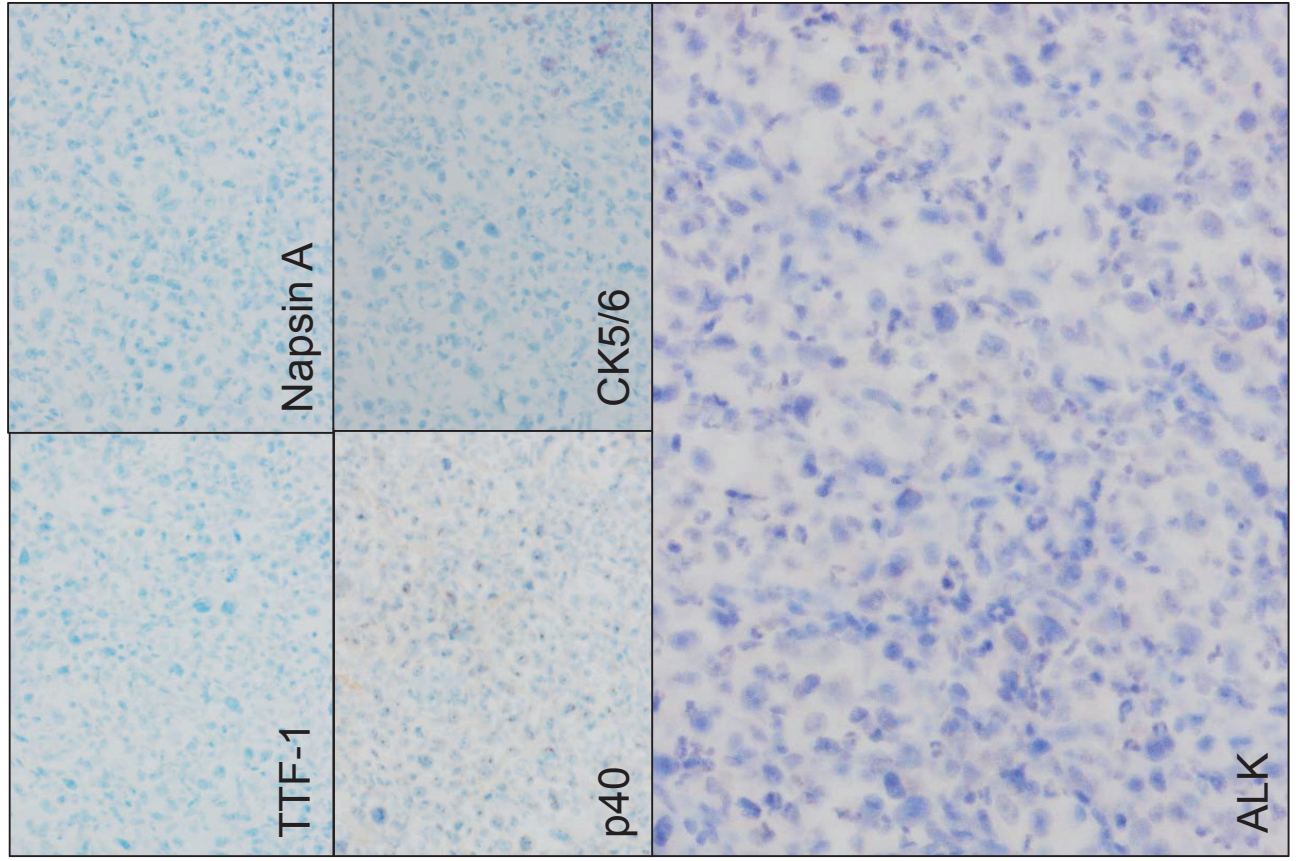
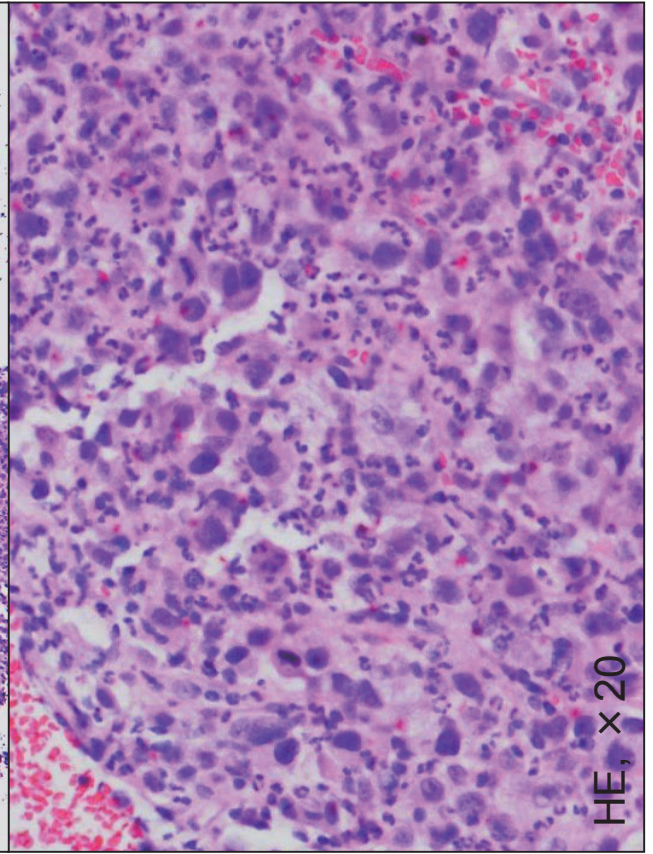
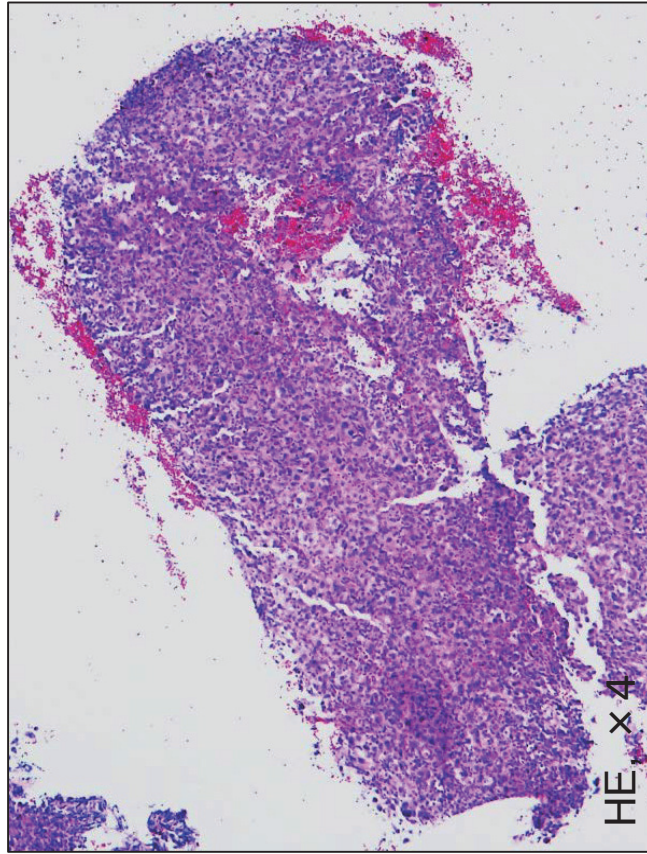
問題5 2017 LC5(生検組織)

解答：②非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)

解説：N/C比の高い、類円形の核が主体の腫瘍細胞が胞巣状や吻合する索状、あるいは篩状に増殖している。また、間質には硝子化が目立ち、リンパ球や形質細胞の浸潤が認められる。免疫染色では、腺癌マーカー(TTF-1, Napsin A)が陰性、扁平上皮癌マーカー(p40, CK5/6)が陽性、神経内分泌マーカー(chromogranin A, synaptophysin, CD56)が陰性であることから、②の非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)と考えられる。本例の手術組織では、最終的に類基底細胞型扁平上皮癌と診断した。

類基底細胞型扁平上皮癌：このタイプは腫瘍全体を占めるものと、類基底細胞成分が50%以上を占めるものがある。増殖性が強い。ため核分裂像が多く、Ki-67陽性率は50～80%に及ぶ。約1/3の症例ではロゼット様の配列が認められる。鑑別診断では、小細胞癌やLCNECなどの神経内分泌癌との鑑別が難しい場合もあるので注意しなければならない(特に生検では注意が必要)。

LC6(肺生検組織)



問題6 2017 LC6(生検組織)

解答1: ③非小細胞癌(NOS)

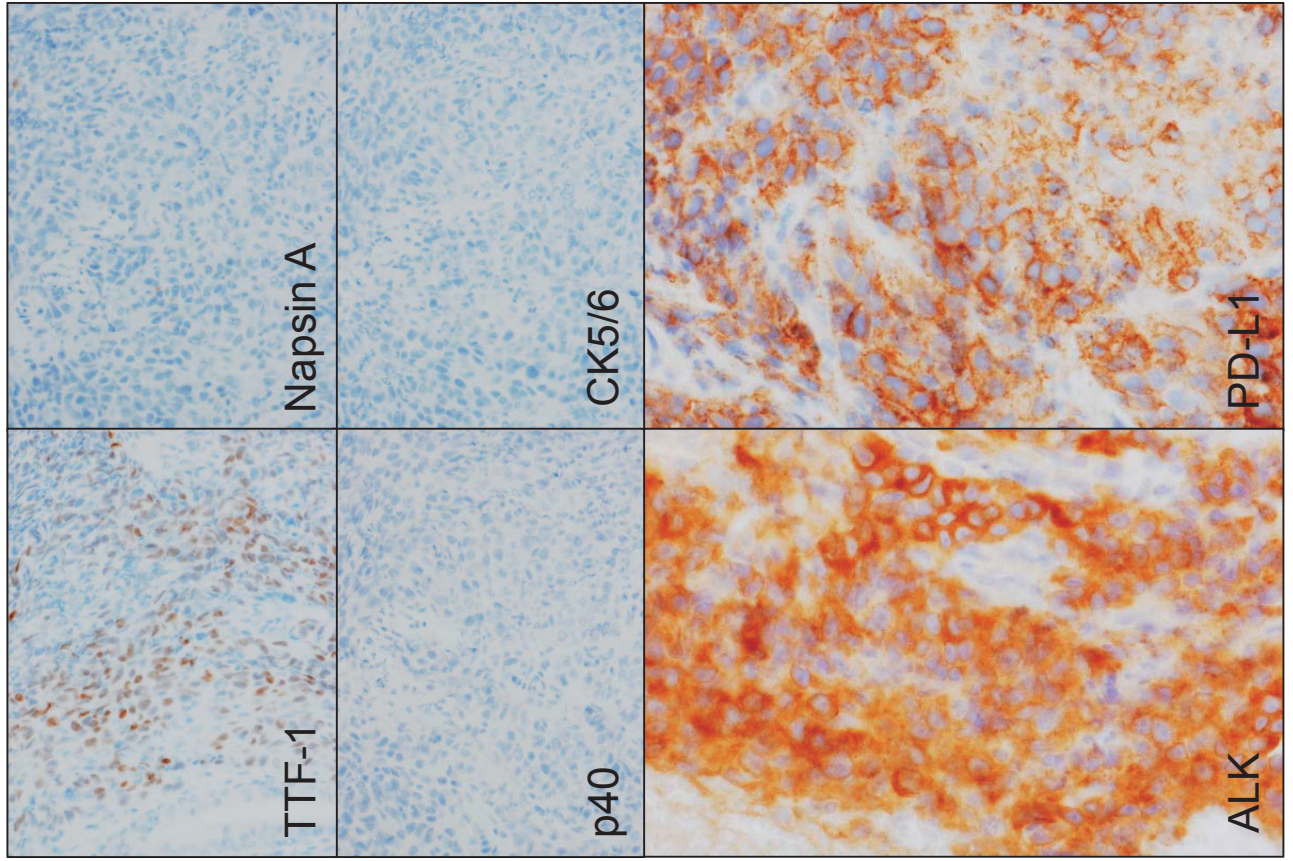
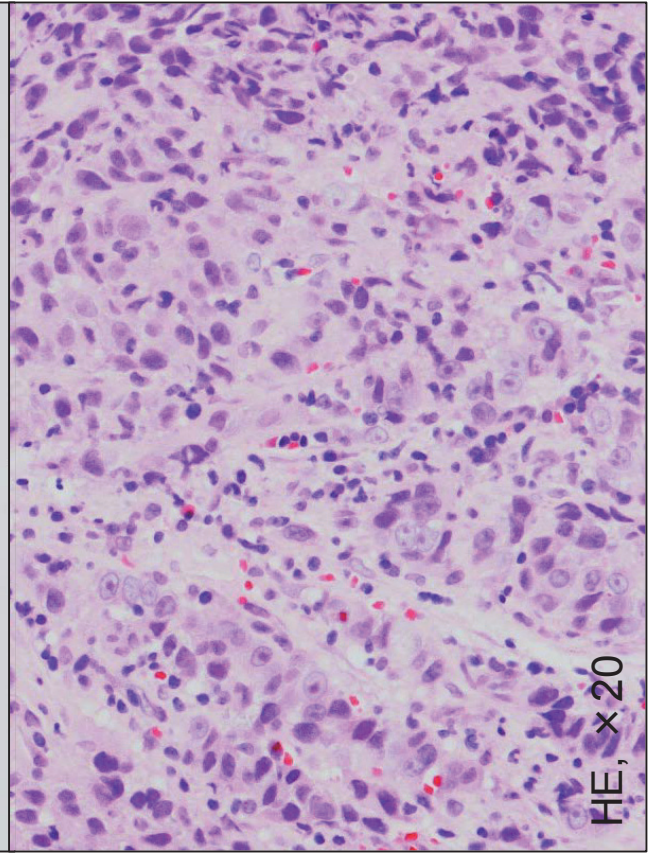
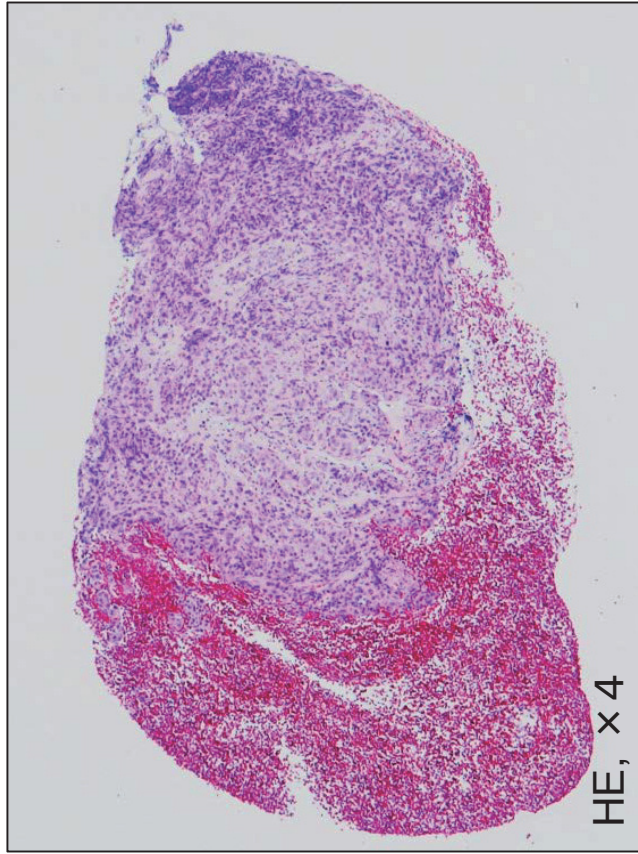
解答2: ALK 陰性

解答1の解説: 大型の巨核や多核を示す腫瘍細胞が充実性に増殖し、多数の好中球浸潤をともっている。免疫染色では、腺癌マーカー(TTF-1, Napsin A)と扁平上皮癌マーカー(p40, CK5/6)は陰性であった。よって、腺癌や扁平上皮癌、腺扁平上皮癌は否定的である。HE染色と免疫染色のパターンからは大細胞癌が示唆されるが、生検組織のみでは病変全体を評価しているわけではないため、非小細胞癌(NOS)の診断にとどめなければならない。本例の手術組織では、最終的に大細胞癌、無分化形質(mull phenotype)と診断した。また、本例ではG-CSFの産生が認められた。

解答2の解説: ALK免疫染色では、腫瘍細胞に陽性反応は認められない。本例はコンパニオン診断薬であるニチレイのヒストファインALK iAEP[®]キットを使用しているため、陰性(スコア0)とも判定できる。

大細胞癌: WHO第4版から診断に免疫染色の判定が導入され、診断のためには手術組織の全体像をみて評価する必要がある。

LC7(肺生検組織)



問題7 2017 LC7(生検組織)

解答1: ①非小細胞癌(腺癌示唆)

解答2: ALK 陽性

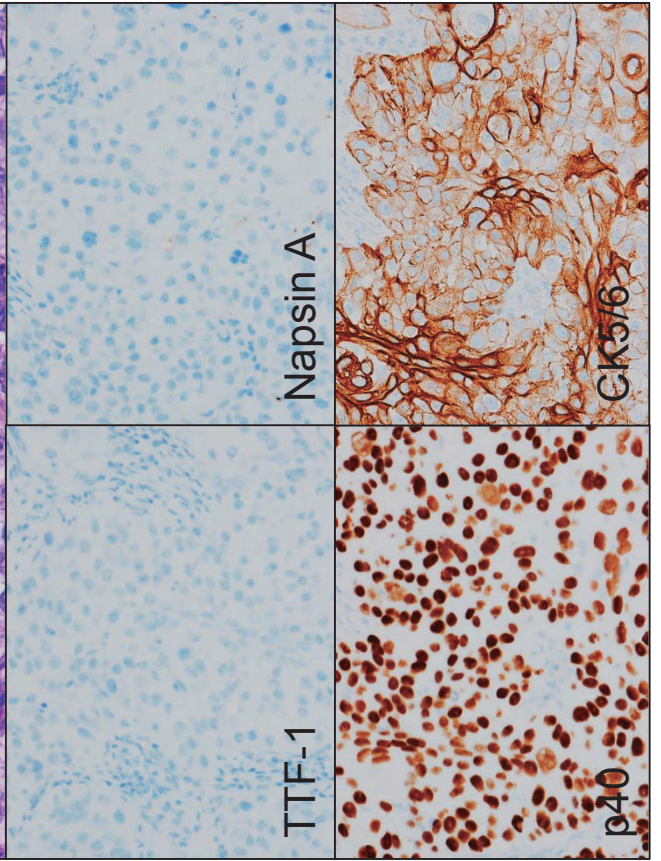
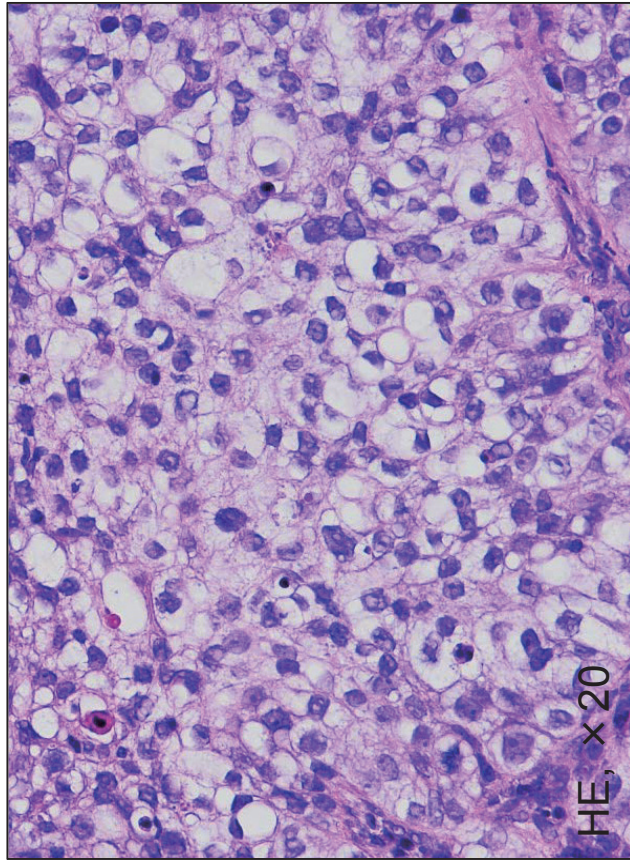
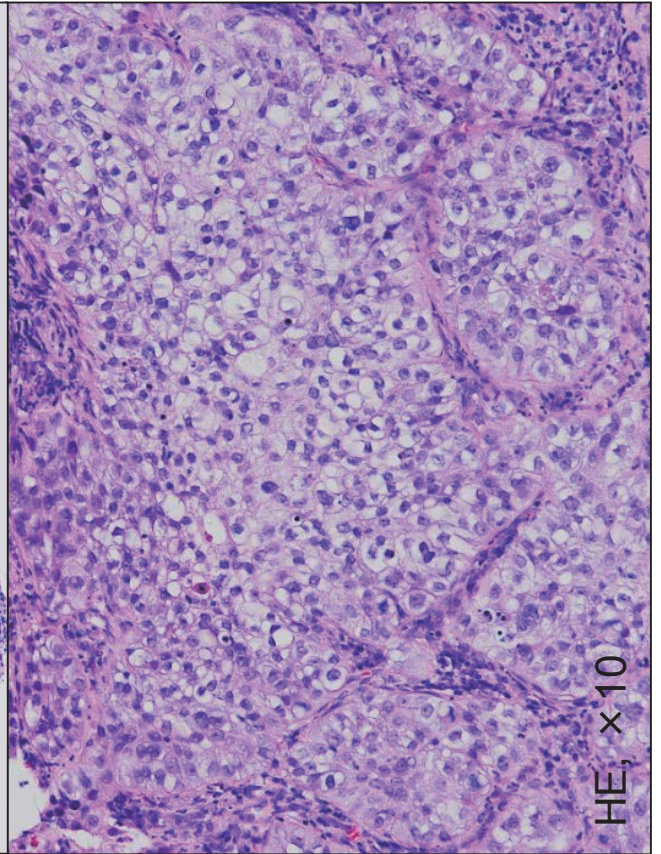
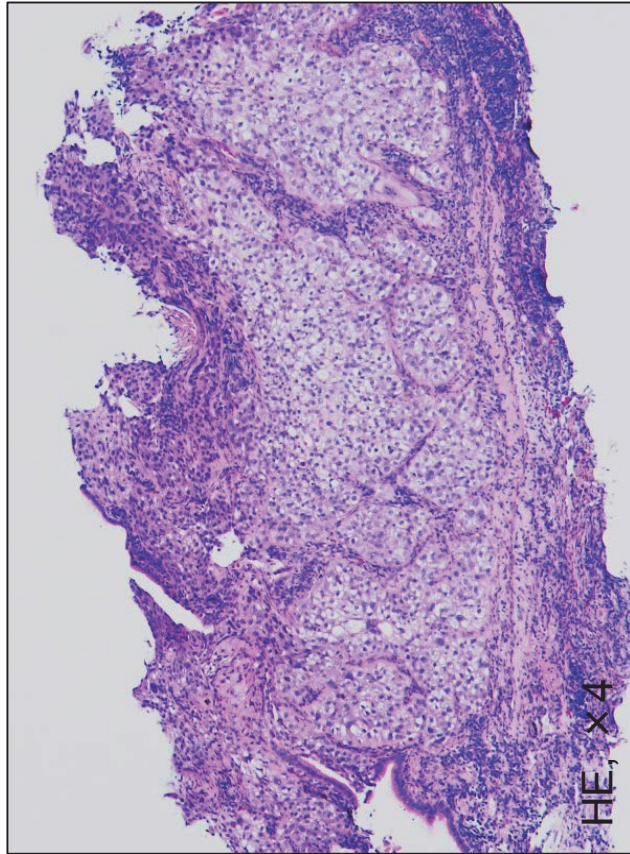
解答3: PD-L1 高発現(約90%)

解答1の解説: HE染色では類円形の核を示す腫瘍細胞の充実性増殖が認められる。間質にはリンパ球主体の炎症細胞浸潤がみられる。HE染色では特定の分化傾向はみられない。免疫染色でTTF-1は陽性、Napsin A, p40, CK5/6は陰性である。HE染色像と免疫染色の結果を合わせて非小細胞癌(腺癌示唆)と考えられる。

解答2の解説: ほとんどの腫瘍細胞の細胞質に陽性反応がみられるため陽性と判定される。本例はコンパニオン診断薬であるニチレイのヒストファインALK iAEP[®]キットを使用しているため、陽性(スコア3)とも判定できる。

解答3の解説: ほとんどの腫瘍細胞の細胞膜に強発現が認められる。そのためPD-L1は高発現(TPS $\geq$ 50%)と判定される。なお、実際の判定では陽性率の記載は必要ないが、約90%と判定した。

LC8(肺生検組織)



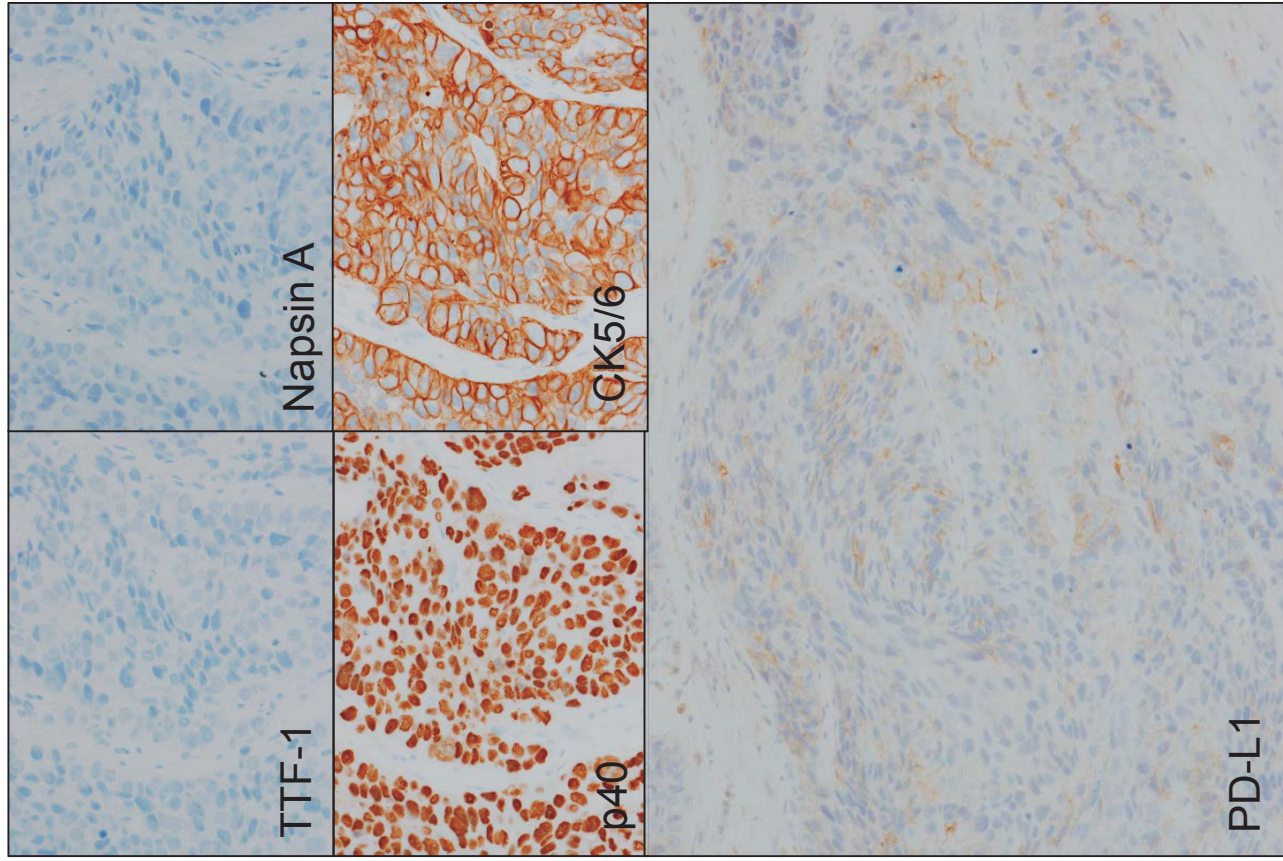
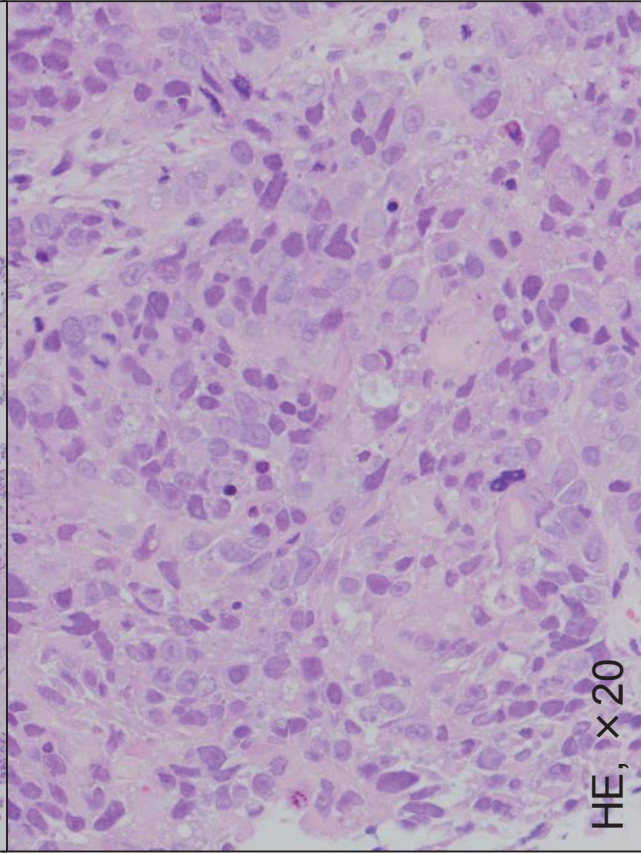
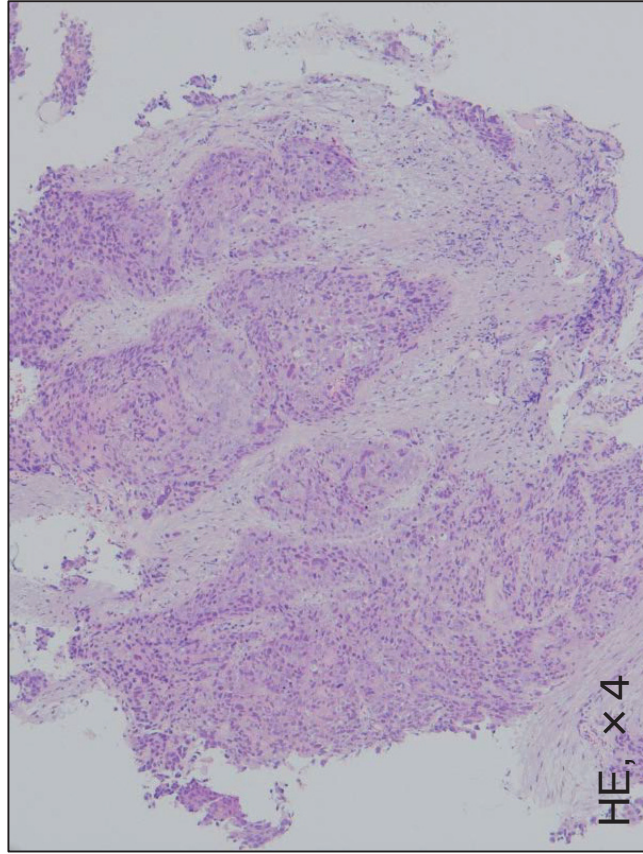
問題8 2017 LC8(生検組織)

解答：②非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)

解説：HE染色では、大小不同の目立つ類円形の核を示す腫瘍細胞が大小の胞巣を形成しながら浸潤増殖している。淡明な細胞質が特徴的である。淡明な細胞質には、PAS染色とd-PAS染色でグリコーゲンが認められ、粘液はみられなかった。鑑別診断には、腺癌(以前の淡明細胞型)、扁平上皮癌(以前の淡明細胞型)、大細胞癌(以前の淡明細胞型)などが挙げられる。転移性肺腫瘍(淡明細胞型腎細胞癌など)も鑑別に挙げられるが、選択枝にはない。免疫染色では腺癌マーカー(TTF-1, Napsin A)が陰性、扁平上皮癌マーカー(p40, CK5/6)が陽性である。HE染色と免疫染色の結果から非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)と推定できる。今回の症例はHE染色のみで組織型の推定は困難で、免疫染色による鑑別が必須の症例である。

肺原発の腺癌と扁平上皮癌の鑑別：免疫染色ではTTF-1, Napsin A, p40, CK5/6が有用であるが、大部分の症例ではTTF-1, p40のみで鑑別可能である。

LC9(肺生検組織)



問題9 2017 LC9(生検組織)

解答1: ②非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)

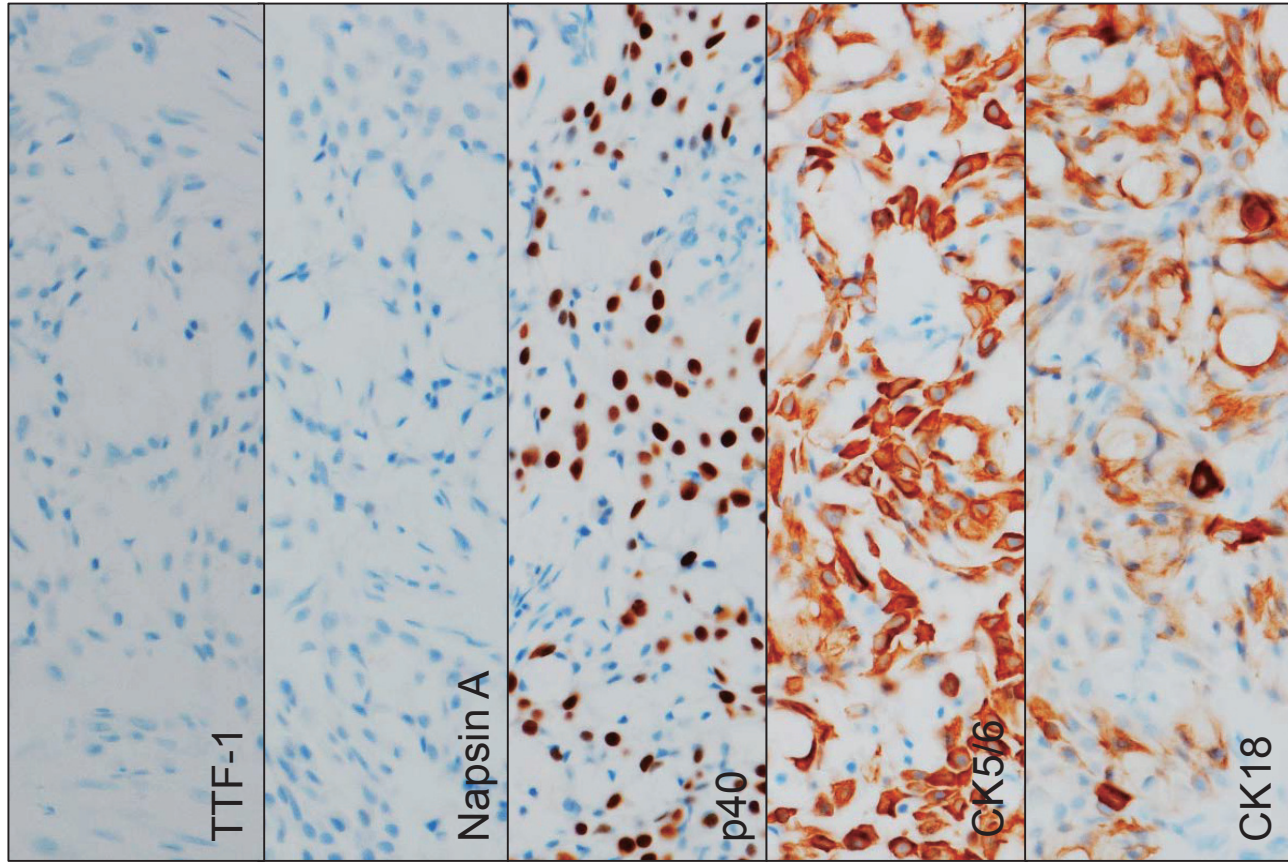
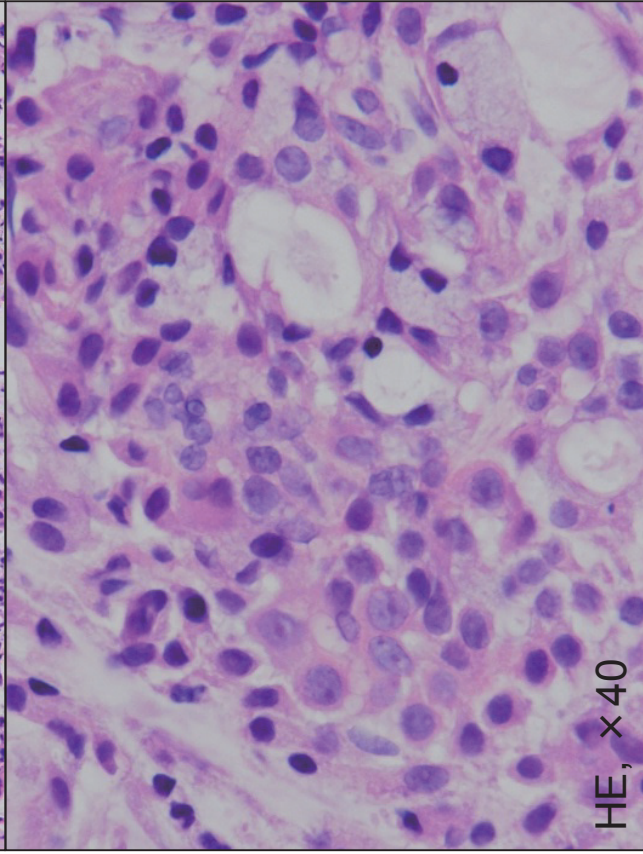
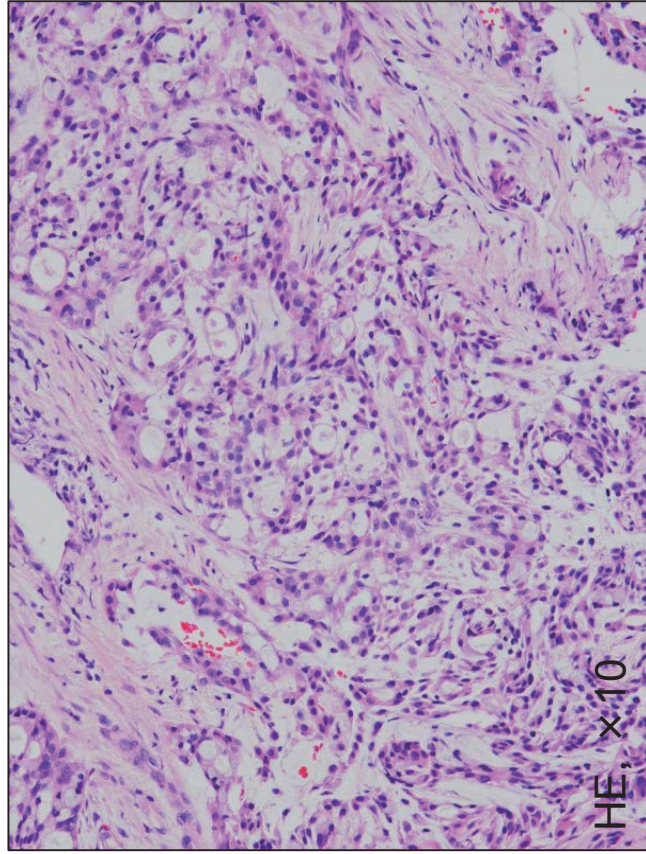
解答2: PD-L1 低発現(約30%)

解答1の解説: HE染色では、核の腫大や大小不同および弱好酸性の豊富な細胞質を有する癌細胞の胞巣状増殖が認められる。特定の分化傾向は明らかではない。免疫染色では腺癌マーカー(TTF-1, Napsin A)が陰性、扁平上皮癌マーカー(p40, CK5/6)が陽性である。HE染色と免疫染色の結果から非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)と推定できる。

解答2の解説: 癌細胞は部分的に細胞膜が弱～中等度の陽性を示している。全体像からは癌細胞の約30%程度が陽性と推定され、低発現($1 \leq \text{TPS} < 50\%$)と判断できる。

PD-L1 IHC 22C3の判定: 目的は切除不能な進行・再発性非小細胞肺癌におけるPD-L1の発現を判定し、治療薬の選択・治療効果予測を行うことである。ペムブロリズマブ(キイトルーダ®)の投与に関して高発現では一次治療、低発現では二次治療から投与可能である。

LC10(肺生検組織)



問題10 2017 LC10(生検組織)

解答: ⑤その他の腫瘍、粘表皮癌

解説: HE染色では、円形の核を示す腫瘍細胞の胞巣状主体の増殖がみられ、この胞巣内には小型の管腔様構造が認められる。腫瘍細胞の核は均一で、核の大小不同や不整は目立たない。弱好酸性の細胞質を有し、あまり目立たないものからやや豊富で多辺形を呈するものまでみられる。免疫染色で腫瘍細胞は、TTF-1, Napsin Aが陰性である。p40やCK5/6は円形核をもつ腫瘍細胞を主体に陽性、CK18は管腔様構造を示す腫瘍細胞を主体に陽性で、一部円形核を有する腫瘍細胞にも陽性である。HE染色の特徴的所見と免疫染色の結果を合わせて粘表皮癌が推定される。本例は手術材料で最終的に粘表皮癌(低悪性度)と診断した。なお、臨床的な全身検索では、他の臓器に原発巣となる腫瘍は認められなかった。

粘表皮癌: 中枢気管支内に発生する。低悪性度病変では粘液産生細胞、扁平上皮細胞、中間細胞から構成されるが、生検のHE染色ではわかりにくい場合もあるので注意が必要である。

後期フオトサーベイの解答

問題		後期フオトサーベイの解答	最終病理診断
LC1		⑤転移性肺腫瘍、腎癌	腎癌(淡明細胞型腎細胞癌)の肺転移
LC2	1	①非小細胞癌(腺癌示唆)	腺癌
	2	ALK:陰性	
LC3		④小細胞癌	小細胞癌
LC4		⑤転移性肺腫瘍、乳癌	乳癌(浸潤性乳管癌)の肺転移
LC5		②非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)	類基底細胞型扁平上皮癌
LC6	1	③非小細胞癌(NOS)	大細胞癌(無分化形質)
	2	ALK:陰性	
LC7	1	①非小細胞癌(腺癌示唆)	腺癌
	2	ALK:陽性	
	3	PD-L1:高発現、約90%	
LC8		②非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)	扁平上皮癌
LC9	1	②非小細胞癌(扁平上皮癌示唆)	扁平上皮癌
	2	PD-L1:低発現、約30%	
LC10		⑤その他の腫瘍、粘表皮癌	粘表皮癌(低悪性度)

肺癌診断時に使用する抗体

由来細胞	抗体名
腺系癌細胞	TTF-1, Napsin A, SP-A
扁平上皮系癌細胞	p40, CK5/6, p63, CK14
神経内分泌系癌細胞	chromogranin A, synaptophysin, CD56(NCAM)
悪性中皮腫細胞	calretinin, WT-1, D2-40, EMA, CD146, Glut-1
反応性中皮細胞	desmin
転移性肺腫瘍細胞	CK7, CK20, CDX-2, vimentin, CD10, PAX8, ER, PgR, mammaglobin, CA19-9, MOC-31, PSA, thyroglobulin, GATA3, etc.
その他	Ki-67, p53
治療薬選択	ALK, PDL-1, ROS1, HER-2

TTF-1 (thyroid transcription factor-1)

- ・甲状腺、肺、間脳で特異的に発現している転写因子
- ・染色性：核
- ・正常細胞：肺のⅡ型肺胞上皮細胞・クララ細胞、甲状腺濾胞上皮に陽性
- ・一般的に腺癌(80-88%陽性, 高度の粘液産生・低分化な腺癌では陰性化)、小細胞癌(90-95%陽性)、LCNEC(50%陽性)、カルチノイド腫瘍(ほとんど陰性)、扁平上皮癌(陰性)、悪性中皮腫(陰性)、甲状腺癌(陽性)
- ・低分化NSCC(腺癌53-80%陽性, 扁平上皮癌0-2%陽性)
- ・扁平上皮癌(3-21%陽性, ただし陽性細胞が10%未満 or 弱陽性)
- ・生検：感度(75-100%), 特異度(89-100%)
- ・TMA：感度(85.7%), 特異度(89.6%)

注意：他臓器原発の腺癌でも低頻度で陽性になることがある(膀胱尿路上皮癌、大腸癌、前立腺癌、胃癌、乳癌、卵巣癌、子宮体癌など)。

TTF-1のpitfall(クローンによる染色性に注意)

- clone 8G7G3/1

腺癌に特異度高い(扁平上皮癌は1%陽性)、感度低い(腺癌は65-77%陽性)

- clone SPT24

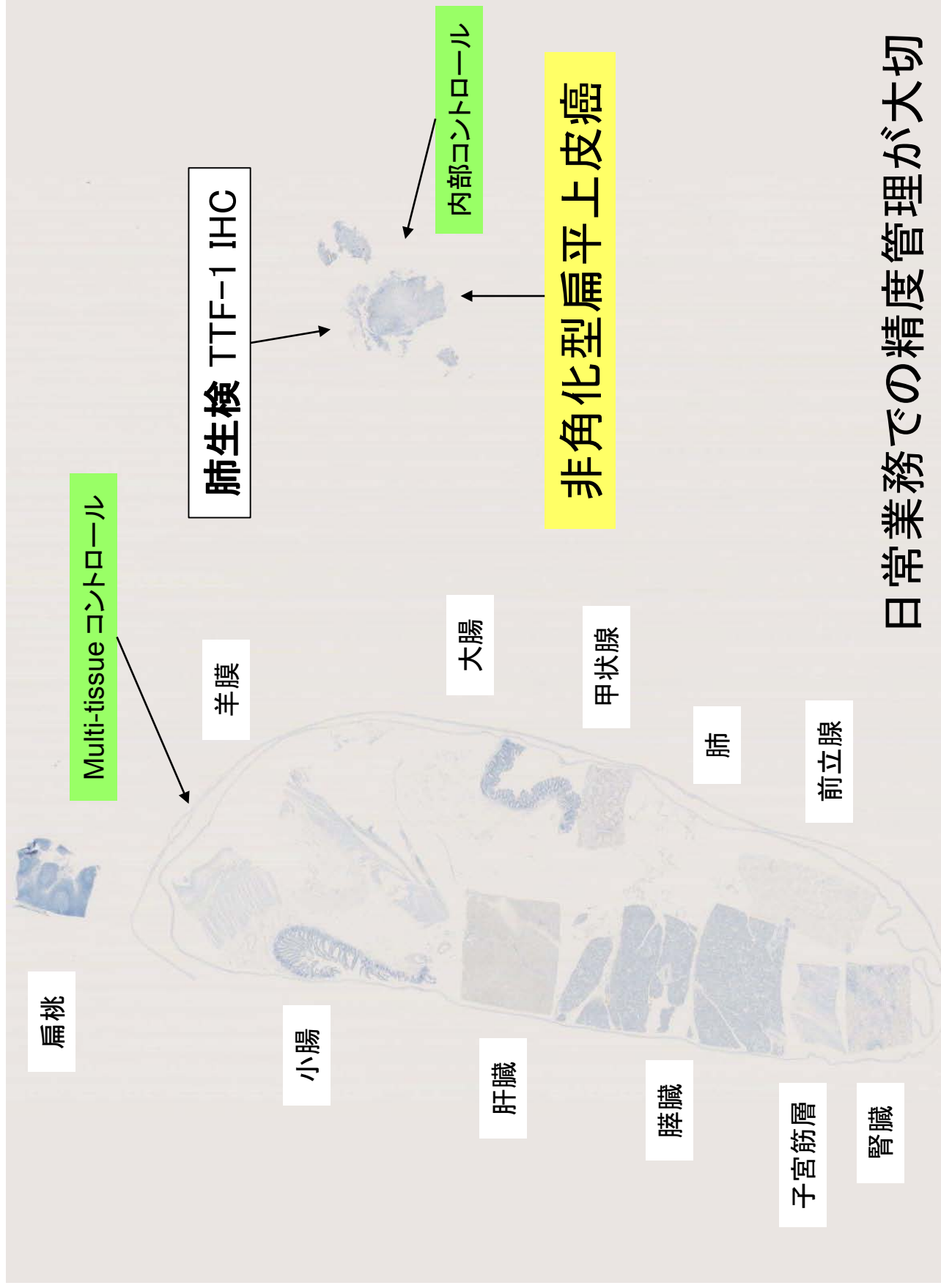
腺癌に特異度低い(扁平上皮癌は17%陽性)、感度高い(腺癌では72-84%陽性)

- 扁平上皮癌の診断は、p40陽性、TTF-1(8G7G3/1)陰性で、94%(449/480)が診断可能。扁平上皮癌ではp40がびまん性(50%以上, 97%)に陽性、あるいは強陽性(91%)

- 扁平上皮癌では全例でNapsin Aが陰性。

- squamoid adenocarcinoma(豊富な好酸性の細胞質、明瞭な細胞境界、壊死を認める)の20例では、8G7G3/1が65%陽性、残りの35%がSPT24に陽性

肺生検 IHC(TTF-1 + multi-tissue control)



日常業務での精度管理が大切

Napsin A

- ・ペプシン酸アスパラギン酸プロテアーゼで、肺サーファクタントBの成熟に関与している。

- ・染色性：細胞質

- ・肺のⅡ型肺胞上皮細胞、肺胞腔内マクロファージに陽性、腎臓では近位尿細管に発現する。

- ・一般的に腺癌(80%陽性)、扁平上皮癌(陰性)、小細胞癌(陰性)、LCNEC(陰性)、悪性中皮腫(陰性)、乳頭状腎細胞癌(70-80%陽性)、淡明細胞型腎細胞癌(10-40%陽性)、卵巣癌や子宮内膜癌でも陽性のことがある。

- ・高分化～中分化腺癌の陽性率が高いが、低分化で低下する。

- ・低分化NSCC(腺癌58-81%陽性, 扁平上皮癌0%)

- ・生検：感度(33-96%), 特異度(100%)

- ・TMA：感度(75%), 特異度(90%)

P40

- Clone: BC28
 - 染色性: 核
 - 正常細胞では扁平上皮、尿路上皮、気管支線毛円柱上皮の基底細胞、前立腺基底細胞、乳腺・唾液腺筋上皮細胞に陽性
 - p63と同様に扁平上皮の基底細胞マーカー
 - **一般的に**腺癌(0-2%陽性)、扁平上皮癌(100%陽性)、小細胞癌(陰性)、LCNEC(陰性)、
 - 生検: 感度(100%), 特異度(98-100%)
 - TMA: 感度(75.9%-80.5%), 特異度(90-97.9%)
- 注意:** p63より感度、特異度は高いが、扁平上皮へ分化した癌部分では陰性になる。

CK5/6

- Clone: D5/16 B4
 - 染色性: 細胞質
 - 正常細胞では、扁平上皮の基底層/中間層/表層、増殖期の扁平上皮、尿路上皮、混合腺、前立腺の基底細胞、筋上皮細胞、中皮細胞に陽性
 - 一般的に腺癌(陰性)、扁平上皮癌(陽性)、小細胞癌(陰性)、LCNEC(陰性)、カルチノイド腫瘍(陰性)
 - 低分化NSCC(腺癌0-4%陽性, 扁平上皮癌61-90%陽性)
 - 扁平上皮癌(75-100%陽性)、腺癌(2-8%陽性、10%未満陽性+弱陽性)
 - 生検: 感度(73-100%), 特異度(96-100%)
 - TMA: 感度(78.9-89.6%), 特異度(80-97.7%)
-

-
- ・Clone: 4A4
 - ・染色性: 核
 - ・扁平上皮、尿路上皮、気管支線毛円柱上皮、前立腺基底細胞、乳腺・唾液腺筋上皮細胞
 - ・一般的に腺癌(10-30%陽性、1/3以下でfocalに陽性)、扁平上皮癌(100%陽性、40-90%でdiffuseに陽性)、小細胞癌(31%陽性)、LCNEC(陰性)、ALK陽性肺癌(30-70%に陽性)
 - ・低分化NSCC(腺癌9-10%陽性、扁平上皮癌91-100%陽性)
 - ・扁平上皮癌(100%陽性)、腺癌(15-16.3%陽性)
 - ・生検: 扁平上皮癌の感度(75-100%), 特異度(60-92%)
 - ・TMA: 扁平上皮癌の感度(87%, 93.5%), 特異度(80%, 81%)
-

Chromogranin A

- Clone: DAK-A3
- 牛の副腎髄質の銀還元顆粒中から分離された物質で、A, B, Cの3種類がある。Aは神経内分泌細胞のクローム親和性分泌顆粒内に存在する約68kDの酸性糖蛋白でカテコールアミン類と共に放出される。
- 染色性: 細胞質に顆粒状
- 正常細胞では神経組織、下垂体、腭ラ氏島、副腎髄質細胞、甲状腺C細胞に陽性
- 一般的に小細胞癌(60%陽性)、LCNEC(80-85%陽性)、カルチノイド腫瘍(陽性)、腺癌(0.4%陽性)、扁平上皮癌(0.4-10%陽性)、非小細胞癌(0.4-5.5%陽性)
- 特異度高い、感度低い

Synaptophysin

- Clone: SY38
- 主要シナプス小胞蛋白p38 (Major synaptic vesicle protein p38)とも呼ばれる。神経細胞のシナプス小胞膜に局在するカルシウム結合性膜糖蛋白である。神経内分泌細胞では、分泌顆粒の乏しいものにも反応するが、chromogranin Aより特異性が低い。
- 染色性: 細胞膜
- 正常細胞では下垂体、膵ラ氏島、副腎髄質細胞、神経節細胞に陽性
- **一般的に**小細胞癌(60-80%陽性)、LCNEC(50-60%陽性)、カルチノイド腫瘍(陽性)、腺癌(11.2%陽性)、扁平上皮癌(0.4-4%陽性)、非小細胞癌(7.5-16.5%陽性)

CD56 (NCAM)

- Clone: 1B6
- 神経細胞接合分子 (neural cell adhesion molecule) である。神経細胞に発現する細胞接着分子で同種結合性があり、神経細胞の分化促進、神経回路網の形成に係する。
- 染色性: 細胞膜
- 正常細胞ではNK細胞、T細胞の一部、形質細胞、神経細胞、星状膠細胞、Schwann細胞、神経内分泌性腫瘍が陽性
- 一般的に小細胞癌(80-90%陽性)、LCNEC(90-100%陽性)、カルチノイド腫瘍(陽性)、腺癌(5.1%陽性)、扁平上皮癌(12.4-16%陽性)、非小細胞癌(8.6-28%陽性)

ALK-IHCの評価方法・内部精度管理 (ニチレイのヒストファインALK iAEP®キットの場合)

	3(陽性)	2(境界域)	1(境界域)	0(陰性)
criteria	a.陽性率>80% 細胞ごとに染色強度の差がある→2b	a.80%≧陽性率>50% b.陽性率>80%だが、細胞ごとに染色強度の差がある	50%≧陽性率>0%	陽性細胞なし
interpretation	腺癌:ALK陽性 LCNEC:全長ALK 小細胞癌:全長ALK	ALK陰性:一部で神経内分泌系への分化あり ALK陽性:扁平上皮への分化部分でALK蛋白の低下	ALK陰性:一部・全ての細胞が神経内分泌系への分化	ALK陰性
instruction	腺癌:FISH不要(確認できれば確実) 腺癌以外:FISHで確認	非定型例が含まれるので、FISHで確認が望ましい	FISH不要(陰性確認できれば確実)	FISH不要(陰性確認できれば確実)

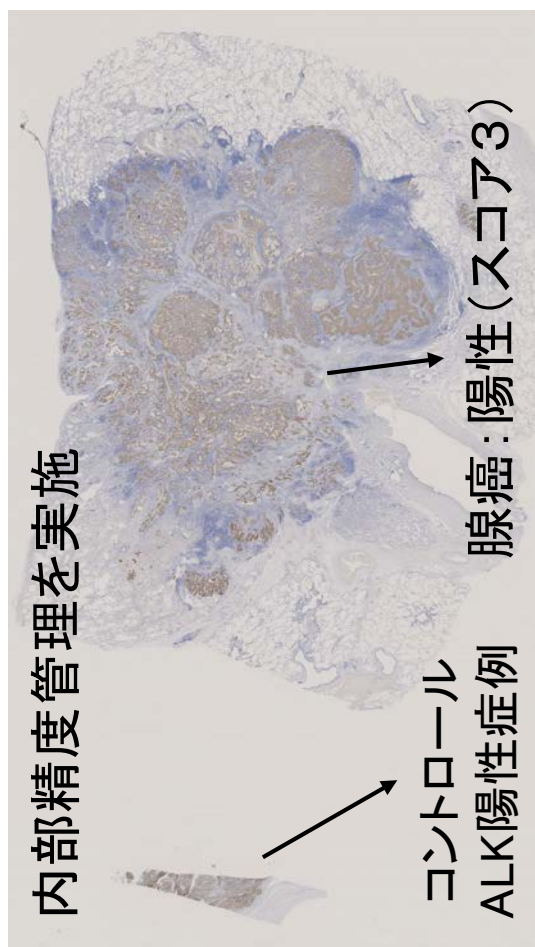
体癌診断用薬品 ヒストファインALK iAEPキット® ATLAS 2014年7月 ニチレイ



IHCとFISHとの一致率

- ・陽性一致率 98.0%(50/51例)
- ・陰性一致率 99.0%(191/193例)
- ・全体一致率 98.8%(241/244例)

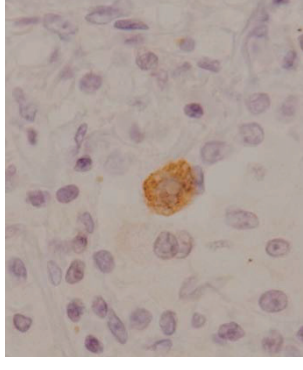
内部精度管理を実施



ALK-IHC評価・判定時の注意点

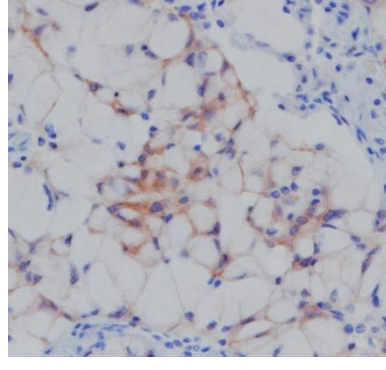
①神経内分泌腫瘍の陽性反応

腺癌と比較して陽性反応が部分的あるいは弱い。



②非癌細胞の陽性反応

II型肺胞上皮、マクロファージ、粘液、気管支軟骨、神経細胞などに偽陽性反応が認められる。



③肺原発印環細胞癌

陽性反応が弱く、偽陰性にならないよう注意が必要。

④p63陽性反応

ALK陽性肺癌の約30%～70%が陽性になるので注意が必要。

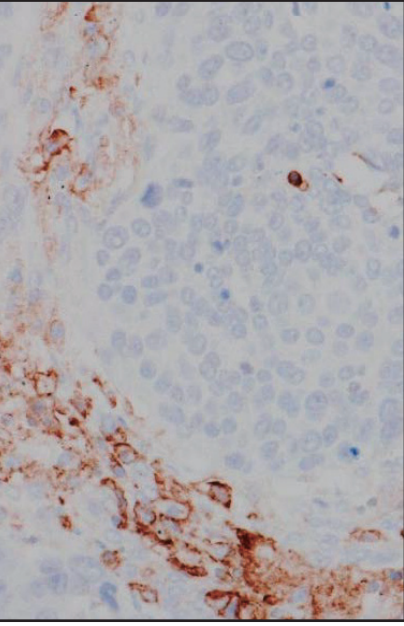
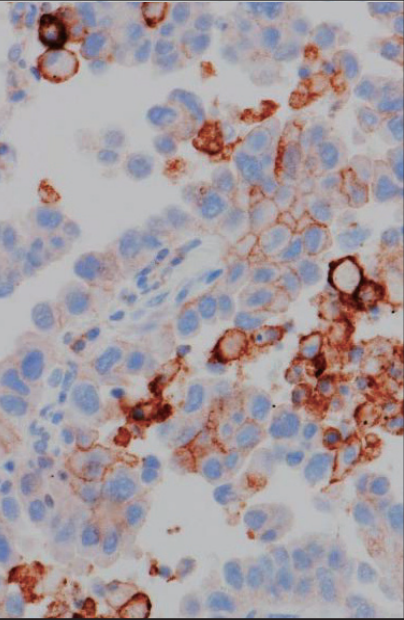
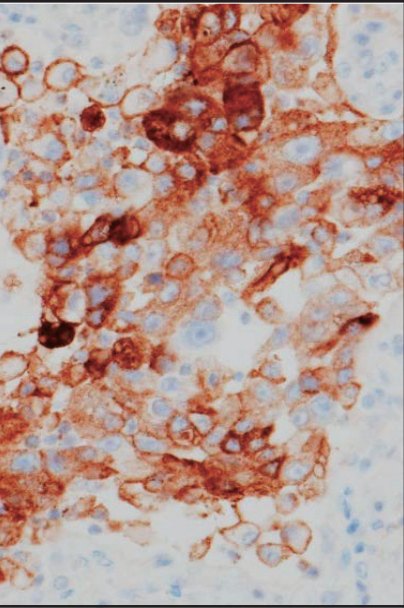
⑤コンパニオン診断薬のメーカーによる異同

アレクチニブはニチレイ社のALK iAEP[®]キット(5A4)、クリゾチニブとセリチニブはロシュ/ベンタナ社の OptiView DAB ユニバーサルキット(D5F3)で行う必要がある。

PD-L1 IHC 22C3の判定

$$\text{TPS} = \frac{\text{PD-L1陽性の腫瘍細胞数}}{\text{全腫瘍細胞数}} \times 100\%$$

TPS (Tumor Proportion Score)

TPS < 1% 陰性	1% ≤ TPS < 50% 低発現	TPS ≥ 50% 高発現
		

基本

- ・評価可能な腫瘍細胞が100個以上ある場合に判定する。
- ・細胞膜（全周または一部）陽性の腫瘍細胞をカウントする。
- ・細胞膜の染色強度は問わない。
- ・マクロファージ、リンパ球に陽性となるので注意が必要である。
- ・正常細胞や壊死細胞はカウントとしない。

PD-L1評価・判定時の注意点

- ・ 10%中性緩衝ホルマリン液で6～48時間の固定を推奨。
- ・ 扁桃などの陽性コントロールで精度管理を行う。
- ・ 0(陰性)と1+(弱陽性)の判定には、強拡大像で確認する。
- ・ 細胞膜が一部陽性のものを見落とさない。
- ・ 癌細胞の変性や壊死、挫滅部分は判定しない。
- ・ マクロファージやリンパ球の陽性像はカウントしない。
- ・ 腫瘍内発現の不均一性に注意する。
- ・ 治療などにより腫瘍内発現は変化する。
- ・ 癌細胞が100個以上なければ参考所見になる。
- ・ EBUS-TBNAやセルブロックの評価は参考所見になる。
- ・ 自施設のTPS分布を確認する。臨床試験では高発現：低発現：陰性の割合がおおよそ3:4:3である。

D)参考文献

《主に腺癌と扁平上皮癌の鑑別》

- ・ Mukhopadhyay S, et al. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:15-25.
- ・ Noh S, et al. Optimal combination of immunohistochemical markers for subclassification of non-small cell lung carcinomas: A tissue microarray study of poorly differentiated areas. *Lung Cancer*. 2012;76:51-55.
- ・ Kim MJ, et al. Best immunohistochemical panel in distinguishing adenocarcinoma from squamous cell carcinoma of lung: tissue microarray assay in resected lung cancer specimens. *Ann Diagn Pathol*. 2013;17:85-90.
- ・ Wei Zhao, et al. Δ Np63, CK5/6, TTF-1 and napsin A, a reliable panel to subtype non-small cell lung cancer in biopsy specimens. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7:4247-4253.
- ・ Ao MH, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF-1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer. *Hum Pathol*. 2014;45:926-934.
- ・ Travis WD, et al. WHO classification of tumours of lung, pleura, thymus and heart, 4th ed., IARC Press, Lyon, 2015.
- ・ Asuman A, et al. The value of cytokeratin 5/6, p63, and Thyroid Transcription Factor-1, in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and non-small cell lung cancer. 2015;31:81-88.
- ・ Kadota K, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol*. 2015;39:1170-1180.
- ・ Smits AJ, et al. Different cutoff values for thyroid transcription factor-1 antibodies in the diagnosis of lung adenocarcinoma. *Appl immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23:416-421.
- ・ Lilo MT, et al. Expression of p40 and p63 in lung cancers using fine needle aspiration cases. Understanding clinical pitfalls and limitations. *J Am Soc Cytopathol*. 2016;5:123-132.
- ・ 鍋島一樹、他. 充実性腺癌の診断と鑑別 (生検および切除組織). *病理と臨床*. 2016;34:280-286.
- ・ Sharma R, et al. Utility of a novel triple marker (combination of thyroid transcription factor 1, Napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung carcinomas using fine-needle aspiration cases. *Hum Pathol*. 2016;54:8-16.
- ・ 武島幸男、他. 非角化型扁平上皮癌の診断と鑑別 (生検および切除組織). *病理と臨床*. 2016;34:332-339.

《主に大細胞癌の鑑別》

- ・ 大谷恭子、他. 大細胞癌の病理診断. *病理と臨床*. 2016;34:340-345.
- ・ Micke P, et al. The impact of the fourth edition of the WHO classification of lung tumours on histological classification of resected pulmonary NSCCs. *J Thorac Oncol*. 2016;11:862-872.

《主に神経内分泌癌の鑑別》

- ・ 榊原里江、他. 神経内分泌癌. 病理と臨床. 2016;34:346-350.
- ・ Thunnissen E, et al. The use of immunohistochemistry improves the diagnosis of small cell lung cancer and its differential diagnosis. An international reproducibility study in a demanding set of cases. J Thorac Oncol. 2017;12:334-346.
- ・ 日本肺癌学会（編）：臨床・病理 肺癌取り扱い規約，第8版. 2017.

《その他》

- ・ Zachara-Szczakowski S, et al. Accuracy of classifying poorly differentiated non-small cell lung carcinoma biopsies with commonly used lung carcinoma markers. Hum Pathol. 2015;46:776-782.
- ・ 森永正二郎. 原発不明がんの免疫染色. 病理と臨床. 2017;35:137-151.
- ・ 松原大祐. 胸部の原発不明がんの鑑別. 病理と臨床. 2017;35:152-159.

《ALK IHC》

- ・ 竹内賢吾. ALK. 免疫組織化学 診断と治療選択の指針. 病理と臨床 臨時増刊号. 2014;32:379-383.
- ・ 日本肺癌学会バイオマーカー委員会：肺癌患者における ALK 融合遺伝子検査の手引き，第2版. 2015.
- ・ 日本肺癌学会・日本病理学会合同 ALK-IHC 精度管理ワーキンググループ：肺癌における ALK 免疫染色プラクティカルガイド. 2017.

《PD-L1 IHC》

- ・ 日本肺癌学会バイオマーカー委員会：肺癌患者における PD-L1 検査の手引き. 2017.
- ・ 谷田部恭. 非小細胞肺癌の病理診断と免疫チェックポイント療法. 病理と臨床. 2018;36:34-38.

謝辞

今回の前期・後期外部精度評価にご協力を頂きました企業、団体の関係者の皆様に
深謝申し上げます。(順不同)

- ・アジレント・テクノロジー株式会社
- ・サクラファインテックジャパン株式会社
- ・ニチレイバイオサイエンス株式会社
- ・浜松ホトニクス株式会社
- ・ライカマイクロシステムズ株式会社
- ・ロシュダイアグノスティックス株式会社
- ・一般社団法人 日本病理学会
- ・一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会
- ・国立大学法人 香川大学
- ・公益財団法人 がん研究会有明病院

企画・実施責任者

国立大学法人 香川大学 病理診断科・病理部
羽場 礼次

協力者

国立大学法人 香川大学 病理診断科・病理部
宮本 加菜、大通 清美、門田 球一

資料作成者

特定非営利活動法人 日本病理精度保証機構 外部精度評価委員会

お問い合わせ先

特定非営利活動法人 日本病理精度保証機構 事務局
運営代行:株式会社学会サービス

〒150-0032

東京都渋谷区鶯谷町 7-3-101

TEL:03-3496-6950 FAX:03-3496-2150

E-mail: info@jpqas.jp